MÉMOIRES DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
Série A, Zoologie, Tome 108

RÔLE DU CORPS ULTIMOBRANCHIAL (C.U.B.) DANS LA RÉGULATION DU MÉTABOLISME CALCIQUE CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

par

Jacqueline PEIGNOUX-DEVILLE*

SOMMAIRE

Pages

INTRODUCTION 5

MATÉRIEL ET MÉTHODES 7

I — ANIMAUX 7

A. Anguilliformes 7

B. Clupéiformes 7

C. Perciformes 7

II — TECHNIQUES 8

A. Techniques biologiques et chimiques 8

1° Prélèvement du sang 8

2° Opérations 8

3° Perfusions 8

4° Dosage de calcium dans le sang 8

5° Prélèvement du corps ultimobranchial 9

B. Techniques histologiques 9

1° Techniques d'étude du corps ultimobranchial en microscopie photonique 9

2° Techniques histochimiques 9

C. Techniques de fluorescence et d'immunofluorescence 10

D. Techniques ultrastructurales 10

E. Techniques particulières à l'étude de l'os 10

CHAPITRE I. — ÉTUDE DE LA MORPHOLOGIE COMPARÉE, DE L'HISTOGÉNÈSE ET DU MODE DE SÉCRÉTION DU CORPS ULTIMOBRANCHIAL (C.U.B.) DES POISSONS TÉLÉOSTÉENS. 13

INTRODUCTION 13

I — Morphologie comparée et caractéristiques cytologiques du corps ultimobranchial de quelques Poissons Téléostéens 13

A. Introduction 13

B. Morphologie comparée du C.U.B. de différentes espèces de Poissons Téléostéens 14

C. Variations de l'épithélium ultimobranchial en fonction de l'état physiologique de l'animal. . . . 15

* Laboratoire de Physiologie générale et comparée, Muséum national d'Histoire naturelle, 7, rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05.

Source : MNHN, Paris

II — Mise en évidence, dans les cellules ultimobranchiales des Poissons Téléostéens, de caractères des cellules à calcitonine de Mammifères 16
A. Étude histochimique des cellules ultimobranchiales 16
B. Démonstration de l'appartenance des cellules ultimobranchiales d'Anguille à la série des APUD (Amine, Precursor, Uptake, Decarboxylase) définie par PEARSE 17
C. Mise en évidence et localisation par immunofluorescence indirecte de calcitonine dans le C.U.B. d'Anguille 18
III — Caractéristiques ultrastructurales des cellules ultimobranchiales des Poissons Téléostéens 19
CONCLUSIONS ET DISCUSSION 20
CHAPITRE II. — VARIATIONS DE L'ACTIVITÉ DU CORPS ULTIMOBRANCHIAL EN RELATION AVEC DES FACTEURS NATURELS ET EXPÉRIMENTAUX PROVOQUANT DES FLUCTUATIONS DE LA CALCÉMIE ET DES MODIFICATIONS DU MÉTABOLISME CALCIQUE, CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS 21
INTRODUCTION 21
I — Fluctuations naturelles de la calcémie et du métabolisme calcique entraînant des variations de l'activité du C.U.B. 21
A. Étude du C.U.B. du Saumon atlantique (Salmo salar) au cours de son cycle vital migratoire. 21
B. Modifications de certains paramètres du métabolisme calcique, à la suite de l'évolution sexuelle naturelle d'un Apode : le Congre (Conger conger) 24
C. Relations existant entre l'activité du C.U.B. et le régime alimentaire de certains Scaridés (Poisson Perroquet) du Pacifique et de Méditerranée 25
II — Modifications expérimentales du métabolisme calcique et activité du C.U.B. 27
A. Évolution sexuelle expérimentale de l'Anguille (Anguilla anguilla L.) par injections d'extraits hypophysaires de Carpe 27
B. Ablation des corpuscules de Stannius chez l'Anguille (Anguilla anguilla L.) 29
C. Effet d'un métabolite de la vitamine D, le 1-25 dihydroxycholécalciférol, sur le métabolisme calcique chez l'Anguille (Anguilla anguilla L.) 30
CONCLUSIONS ET DISCUSSION 33
CHAPITRE III. — EFFET DE CALCITONINES EXOGENES SUR LE MÉTABOLISME CALCIQUE, CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS 35
INTRODUCTION 35
I — Effet de calcitonines exogènes sur la calcémie, l'activité du C.U.B. et du tissu osseux, chez les Poissons Téléostéens 36
A. Action de la CT porcine sur des Truites 36
B. Action de la CT synthétique de Saumon sur des Anguilles maintenues en eau de mer 37
C. Action de la CT synthétique de Saumon sur des Anguilles dont l'évolution sexuelle est provoquée par des injections d'extraits hypophysaires de Carpe 40
II — Action de la calcitonine sur le transport de calcium au niveau des branchies 44
CONCLUSIONS ET DISCUSSION 46
CHAPITRE IV. — EFFET DE L'ABLATION DU CORPS ULTIMOBRANCHIAL SUR LE MÉTABOLISME CALCIQUE DE L'ANGUILLE 49
INTRODUCTION 49
I — Mise au point de l'opération 49

Source : MNHN, Paris

II — Effet de l'ultimobranchialectomie sur différents paramètres du métabolisme calcique chez l'Anguille 50

A. Effet de l'ultimobranchialectomie sur le taux de calcium sanguin et le métabolisme osseux chez l'Anguille 50

B. Effet de l'ultimobranchialectomie sur les échanges de calcium au niveau des branchies chez l'Anguille 52

C. Effet de l'ultimobranchialectomie sur la réponse des branchies à la calcitonine, in vitro 53

CONCLUSIONS ET DISCUSSION 55

CONCLUSIONS ET DISCUSSIONS GÉNÉRALES 57

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

INTRODUCTION

L'ion calcium joue un rôle important dans de nombreux mécanismes biologiques. La régulation de son métabolisme est particulièrement intéressante à étudier, dans la super-classe des Poissons (tableau 1), en raison de leur environnement aquatique.

En eau de mer, le taux de calcium du milieu extérieur peut être quatre fois supérieur à celui du milieu intérieur. En eau douce, au contraire, les Poissons doivent combattre une perte de calcium, le milieu extérieur pouvant en contenir dix fois moins que leur sang. Le système endocrinien impliqué dans la régulation du métabolisme calcique, chez les Poissons, est très différent de celui des Tétrapodes. Chez les Mammifères, deux hormones (la parathormone et la calcitonine) et un facteur se comportant comme une hormone (le 1-25 $(OH)_2$ Vitamine D_3) règlent le taux de calcium sanguin. Leurs principaux organes cibles sont l'intestin, le rein et le squelette. Les Poissons n'ont apparemment pas de parathyroïdes (FLESCHMAN, 1947 ; HOAR, 1951 ; PICKFORD, 1953). Certains d'entre eux (les Holostéens et les Téléostéens) possèdent des glandes originales, décrites par STANNIUS en 1839 : les corpuscules de Stannius qui interviennent dans la régulation du métabolisme calcique (FONTAINE, 1964-1967 ; FONTAINE et al., 1972). La calcitonine apparaît chez les Chondrichthyens et est présente, ensuite, dans toute la série des Vertébrés. On sait aussi que le foie de certains Poissons Téléostéens contient de grandes quantités de Vitamine D (BILLS, 1954). Enfin, aux trois organes connus chez les Vertébrés supérieurs comme étant des sites importants de transfert du calcium, s'ajoutent chez les Poissons les branchies qui interviennent d'une façon importante dans la régulation ionique chez les Téléostéens (SMITH, 1932 ; KROGH, 1939 ; MAETZ, 1971 ; MILET et al., 1975).

Si tous les auteurs sont d'accord pour affirmer que la calcémie est bien régulée chez les Poissons Téléostéens (COPP, 1970 ; PANG, 1971), il subsiste encore de nombreux points non élucidés concernant les mécanismes de cette régulation et en particulier l'importance de la calcitonine. Il existe, à ce sujet, deux tendances : certains auteurs pensent que la calcitonine a peu ou pas du tout d'effet sur la régulation du métabolisme calcique chez les Poissons, et que seuls interviennent les corpuscules de Stannius, hypocalcémiants, et l'hypophyse, hypercalcémiante (PANG, 1971-1973). Les autres admettent le rôle important joué par le corps ultimobranchial, hypocalcémiant, ainsi que par les corpuscules de Stannius et sans doute l'hypophyse, qui doit agir par l'intermédiaire des glandes génitales et de la thyroïde (RASQUIN and ROSENBLOOM, 1954 ; CHAN, 1972 ; COPP, 1972 ; LOPEZ, 1973).

Pour toutes ces raisons, il était particulièrement intéressant d'étudier le métabolisme du calcium et sa régulation chez les Poissons. Ce mémoire concerne plus spécialement le rôle de la calcitonine chez les Téléostéens.

Lorsque nous avons commencé notre travail, COPP (COPP et al., 1967) qui avait découvert la thyrocalcitonine en 1962, venait, indépendamment, mais en même temps que TAUBER (1967) d'extraire cette hormone des corps ultimobranchiaux de Poulet et de Requin (Squalus suckleyi), démontrant ainsi que la calcitonine était un facteur ultimobranchial, ce qui n'était pas évident d'après les données obtenues chez les Mammifères où les cellules produisant la calcitonine sont localisées dans la thyroïde.

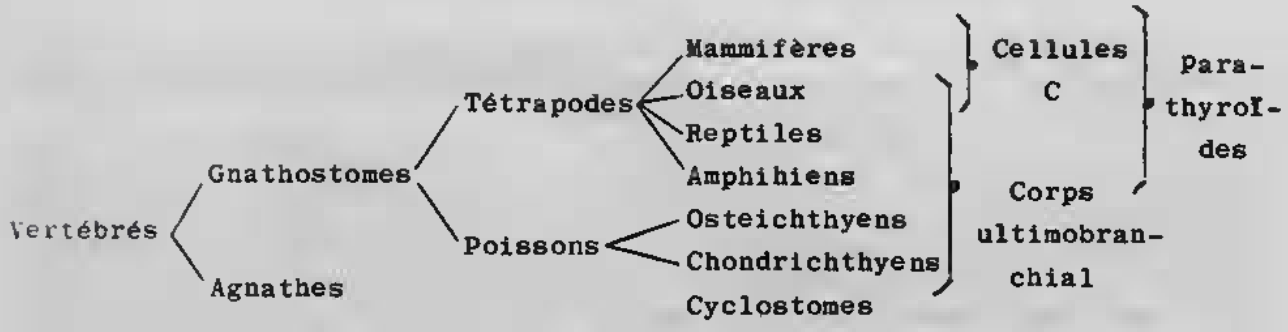
L'étude physiologique du C.U.B. et de l'hormone qu'il sécrète, chez les Poissons Téléostéens, nécessitait, lorsque nous l'avons entreprise, la mise en évidence préalable de certaines données structurales sur cette glande, et nous avons en premier lieu établi différents critères morphologiques caractérisant son activité. L'étude histologique du C.U.B. chez diverses espèces, en fonction du déroulement

Source : MNHN, Paris

du cycle biologique (migrations, développement sexuel) ou du régime alimentaire, a apporté des renseignements particulièrement intéressants de ce point de vue. Nous avons ensuite étudié le rôle de la calcémie dans la régulation de l'activité du corps ultimobranchial, recherché les effets de la calcitonine exogène sur divers paramètres du métabolisme calcique (calcémie, activité du corps ultimobranchial, os, transfert de calcium au niveau branchial), déterminé enfin l'influence de la suppression de l'hormone endogène sur ces mêmes paramètres.

TABLEAU N° 1.

Présence du corps ultimobranchial et des parathyroïdes dans la série des Vertébrés.



Source : MNHN, Paris

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I — ANIMAUX

Tous les Poissons utilisés pour cette étude font partie du super-ordre des Téléostéens.

A. ANGUILLIFORMES.

Dans nos rivières, les Anguilles (Poisson migrateur amphihalin) se rencontrent sous des aspects différents, selon le stade physiologique où elles se trouvent :

— les Anguilles femelles jaunes sont sédentaires et se nourrissent abondamment. Leur peau est mince, leur dos verdâtre et leurs flancs jaunes. Ces animaux ont un rapport gonosomatique inférieur à 1 (cf. définition p. 8).

— les Anguilles femelles argentées ne se nourrissent généralement plus. Leur peau est épaisse, leur dos noir et leurs flancs argentés, leur rapport gonosomatique est supérieur à 1. A une époque de l'année bien déterminée, ces Anguilles migrent vers la mer.

Lors de notre travail, nous avons utilisé essentiellement des Anguilles femelles argentées.

1) Les Anguilles (*Anguilla anguilla L.*) proviennent de Crande-Brière (Loire atlantique) pour les jeunes mâles (pimpeneaux) et des étangs de la Somme ou de Loire-Atlantique pour les femelles.

2) Les Congres (*Conger conger L.*) sont pêchés dans le Colfe de Cascogne et placés dans des aquariums d'eau de mer au Musée de la mer de Biarritz. Leur « migration relative » ainsi que l'appelle MOUSSET (1957) sera décrite au Chapitre II, § B I.

B. CLUPÉIFORMES.

1) Les Truites arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii Rich.*) sont fournies au Laboratoire par une pisciculture des environs de Paris (pisciculture de Grattereau à Montigny-sur-Loing).

2) Les Saumons (*Salmo salar L.*) ont été pêchés : d'une part en eau douce, dans les cours d'eau du Bassin de l'Adour (Pyrénées atlantiques) à deux époques de l'année correspondant à deux étapes de leur cycle migratoire ; d'autre part en mer, au large des côtes occidentales du Groënland. Leur cycle migratoire sera décrit au Chapitre II, § A 1.

C. PERCIFORMES.

Les Poissons Perroquet faisant partie de la famille des Scaridés ont deux provenances : les eaux de Polynésie française (Îles Gambier) pour les *Scarus species* et de la Méditerranée (large des côtes Turques) pour *Sparisoma cretense*.

Les Anguilles et les Truites sont maintenues en stabulation au Laboratoire en eau courante, avant d'être mises en expérience.

Tous les autres animaux ont été sacrifiés sur les lieux de pêches et les prélèvements ont été effectués sur place ou dans des laboratoires proches, par MM. Maurice Fontaine et Christian Milet et par Mme A. Martin-Brisson.

Source : MNHN, Paris

II — TECHNIQUES

Nous résumons brièvement les techniques générales utilisées au cours de notre expérimentation. Les techniques particulières et le protocole de chaque expérience seront décrits au début des paragraphes correspondants.

A. Techniques biologiques et chimiques.

1) *Prélèvement du sang.*

— Les Anguilles et les Congres sont placés dans un appareil à contention. Une incision est pratiquée, ventralement, entre les nageoires pectorales. L'aorte ventrale est dégagée à l'aide d'une sonde cannelée, pincée avec un « clamp » puis coupée à 2 cm du bulbe.

— Les Truites sont saignées par section de la queue, en arrière de la région anale.

Les Anguilles parfois, les Saumons et les Poissons Perroquet sont ponctionnés au cœur, à l'aide d'un trocart. Le sang recueilli est conservé à 4° C, centrifugé 12 heures plus tard à 3 000 g pendant 10 mn. Le sérum est congelé à — 20° C jusqu'au moment des dosages.

2) *Opérations.*

a) L'ablation des corpuscules de Stannius de l'Anguille est effectuée d'après la technique de Leloup-Hatey (1964 b).

b) La technique d'ablation du corps ultimobranchial de l'Anguille a été mise au point et sera décrite dans la quatrième partie de ce travail.

3) *Perfusions.*

a) Les mesures des flux unidirectionnels de calcium au niveau des branchies ont été réalisées au moyen de perfusions de branchies isolées en s'inspirant de différentes techniques mises au point sur têtes isolées par Schiffman, 1961, Tosteson et al., 1962, Richard et Fromm, 1970, Shuttleworth, 1972. La méthode d'étude des flux de calcium sur têtes isolées employée précédemment (Milet et al., 1975) a été modifiée pour deux raisons :

— résoudre le problème des différences individuelles importantes qui rendait difficile les comparaisons des activités testées sur des animaux présentant de grandes différences de flux de base ;

— obtenir, sur un même animal, des déterminations en nombre suffisant pour permettre une exploitation statistique.

La composition du Ringer utilisé pour la perfusion est la suivante : NaCl 136 mM, Ca^{++} ($CaCl_2$) 3 mM, KCl 2 mM, Mg SO_4 1,9 mM, glucose 3 mM. Il est tamponné à pH 7,4 avec du tampon phosphate 0,2 M dans la proportion de 2 %. Ce Ringer est filtré sur millipore 0,25 μ avant son utilisation.

b) L'étude ultrastructurale du C.U.B. a nécessité une fixation par perfusion. Cet organe, bien irrigué, étant situé près du cœur, nous avons perfusé le liquide fixateur par l'aorte ventrale, vers le cœur.

Toutes ces perfusions ont été réalisées à l'aide d'une pompe péristaltique (Cilson).

4) *Dosage du calcium dans le sang.*

Le calcium sérique est dosé par photométrie d'absorption atomique à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer (Rousselet, 1968).

Les échantillons (0,2 ml) sont dilués au 1/50e dans une solution de chlorure de lanthane à 5 ‰.

Source : MNHN, Paris

dans de l'acide chlorhydrique. Le signal délivré par l'appareil est traité par un intégrateur numérique (Infotronics CRS 101) donnant la surface du pic correspondant à chaque échantillon. Cette surface est proportionnelle à la quantité de calcium contenu dans l'échantillon.

5) *Prélèvement du C.U.B.*

Chez toutes les espèces de Poissons Téléostéens que nous avons étudiées, le C.U.B. se présente comme une glande individualisée, paire ou médiane, se situant dans du tissu conjonctif entre la tunique musculaire de l'œsophage et le sinus veineux. Cette glande étant incluse dans un tissu compact, elle n'est jamais visible à la dissection. Nous prélevons donc une « région anatomique » délimitée :

– ventralement par le sinus veineux;
– dorsalement par la paroi ventrale de l'œsophage;
– vers la partie postérieure de l'animal par le diaphragme (voir fig. 46).

Pour ce prélèvement, les animaux sont, selon les besoins de l'expérience, anesthésiés au MS 222 (tricaïne méthane sulfate de sodium) (3 g dans 7 litres d'eau) ou bien, lorsqu'ils ont été saignés au préalable, immobilisés par section de la moelle épinière. Maintenu dans un appareil à contention, face ventrale vers le haut, l'animal est incisé entre les nageoires pectorales. La région du cœur est dégagée, le péricarde ouvert, l'aorte coupée au niveau du bulbe. Le cœur est soulevé, dégagé du péricarde et détaché par une section au niveau du sinus veineux. Une sonde cannelée est introduite par la bouche, dans l'œsophage, dont une partie de la paroi ventrale est prélevée.

6) *Détermination du rapport gonosomatique :* RGS.

$$\text{Rapport gonosomatique} = \frac{\text{poids des gonades}}{\text{poids du corps}} \times 100.$$

B. TECHNIQUES HISTOLOGIQUES.

1) *Techniques d'étude du C.U.B. en microscopie photonique.*

La fixation des pièces est réalisée dans le liquide de Bouin aqueux, pendant 3 à 8 jours selon la taille des échantillons. Le lavage et la déshydratation dans différents alcools sont complétés par un séjour des pièces dans l'alcool butylique.

L'inclusion est faite dans la paraffine. Les coupes, de 5 μ d'épaisseur, sont toujours sériées pour permettre la recherche de la glande : la coloration à l'hémalun-éosine est utilisée pour cette reconnaissance. Nous avons utilisé principalement deux colorations choisies parmi celles qui nous avaient donné les meilleurs résultats :

– le Cleveland-Wolfe, trichrome selon Herlant,
– le PAS (acide périodique – réactif de Schiff), ou réaction de Hotchkiss Mac-Manus, met en évidence les glycoprotéines. Elle comporte une oxydation par l'acide périodique et une coloration par le réactif de Schiff; elle est suivie d'une coloration nucléaire à l'hématoxyline de Groat.

2) *Techniques histochimiques.*

a) Recherche du glycogène, par le test de digestion par la maltase.

b) Mise en évidence des mucopolysaccharides, consistant en :

– une acétylation réversible : blocage avant oxydation par l'acide périodique des groupements 1-2 glycols. La réaction au PAS est alors négative;

– une libération par saponification des 1-2 glycols acétylés. Si la coloration PAS qui suit est positive, il y a des mucopolysaccharides.

Source : MNHN, Paris

c) Colorations spécifiques des cellules APUD :
– bleu de toluidine selon SOLCIA et SAMPIETRO (1968) ;
– hématoxyline au plomb selon STAHL et CARLON (1966).

C. TECHNIQUES DE FLUORESCENCE ET D'IMMUNOFLUORESCENCE.

1) Mise en évidence du captage, par les cellules ultimobranchiales d'Anguille d'un précurseur d'amine : la dihydroxyphenylamine (DOPA), et de leur faculté de transformer ce produit, selon la méthode de FALCK (1962). Pour chaque animal, la région du C.U.B. est prélevée et immédiatement immergée dans l'azote liquide, puis lyophilisée pendant 24 heures au minimum à – 60° C.

Les échantillons sont alors exposés à des vapeurs de paraformaldéhyde (équilibrée à 60 % d'humidité) dans une étuve à 60° C, pendant 3 heures. Les pièces sont incluses dans de la paraffine à 58° C, puis coupées à 10 µ. Les coupes, sériées, sont placées sur des lames sèches et disposées sur une platine chauffée. Elles sont alors recouvertes d'une goutte d'un mélange Entellan-toluène (3 ml de toluène pour 30 ml d'Entellan).

Les tissus sont observés en lumière ultra-violette sur un microscope Leitz, à lampe à haute pression de mercure et filtre BC 12. Une coupe sur dix est post-fixée au liquide de Bouin, puis colorée à l'hématoxyline-éosine afin d'effectuer une vérification de la présence du corps ultimobranchial.

2) Mise en évidence, par immunofluorescence indirecte, de la présence de calcitonine dans le corps ultimobranchial d'Anguille, selon la méthode de COONS et al. (1955).

Le C.U.B. d'Anguille est prélevé et est immédiatement conservé dans l'azote liquide. Des coupes de 5 µ d'épaisseur sont effectuées au cryostat, prélevées sur lame et fixées au Ringer-formol neutre. L'antisérum est constitué de sérum humain anti-calcitonine synthétique de Saumon. Le sérum marqué à la fluorescéine est du sérum de Lapin anti-globuline humaine.

L'observation et la vérification de la présence du C.U.B. sur des coupes voisines sont effectuées de la même façon que dans l'expérience précédente.

La technique est décrite en détail par TISSERAND et al. (1977).

D. TECHNIQUES ULTRASTRUCTURALES.

Fixation selon la méthode de SABATINI et al. (1963).

Le C.U.B. est fixé, in situ, par perfusion (cf. Matériel et Méthodes, A, 3) d'un liquide fixateur composé de 5 % de glutaraldéhyde dans du tampon cacodylate 0,1 M à pH 7,4. Les pièces sont ensuite découpées dans ce même liquide fixateur, où elles séjournent pendant 2 heures à 0° C. Après rinçage au tampon cacodylate 0,1 M additionné de saccharose 0,2 M (pour en augmenter l'osmolarité), les pièces sont post-fixées à froid à l'acide osmique à 1 % dans le tampon cacodylate, pendant 1 h. 1/2.

Après déshydratation et inclusion dans l'araldite, des coupes semi-fines sont effectuées, colorées au bleu de méthylène, puis observées pour permettre le repérage de l'organe parmi les blocs.

Les coupes ultrafines colorées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb sont examinées au microscope électronique Hitachi HU 12.

E. TECHNIQUES PARTICULIERES À L'ÉTUDE DE L'OS NON DÉCALCIFIÉ.

Des fragments d'os vertébral sont prélevés et débarrassés du muscle qui les entoure, en ayant soin de laisser une très mince couche tissulaire afin de ne pas léser les cellules bordantes. Les échantillons sont colorés en masse dans la fuchsine basique alcoolique à 1 % (afin d'éviter la déminéralisation) puis inclus dans du méthacrylate de méthyle.

Les observations sont faites sur des coupes d'os non décalcifié, de 10 à 15 µ d'épaisseur, et sur les microradiographies correspondantes. Le degré de minéralisation de l'os est déterminé sur microradiographies, par une méthode histophotométrique de précision (BAUD, 1957). Cette méthode consiste à radiographier en même temps que chaque coupe un étalon de comparaison composé de 7 marches

Source : MNHN, Paris

d'aluminium d'épaisseur connue de façon à ce que l'intensité du rayonnement X, le temps d'exposition et les conditions de développement soient exactement les mêmes.

Les microradiographies sont faites avec un générateur de rayons X (Massiot-Philips, PW 1008) sous 30 KV-20 mA, en utilisant le rayonnement Kα du cuivre. La coupe non décalcifiée est maintenue en contact étroit avec le film (émulsion Kodak spectroscopic 649-0) dans une caméra à vide. Ces microradiographies sont ensuite étudiées à l'histophotomètre Leitz. Une courbe d'étalonnage est tracée après mesure d'un certain nombre de déflexions du photomètre pour chaque palier de l'étalon d'aluminium, puis les mesures sont faites sur la coupe en explorant la totalité de celle-ci. La valeur moyenne obtenue est exprimée en fonction de l'épaisseur de la coupe, en équivalent aluminium; elle représente le degré de minéralisation moyen de la coupe. À partir de cette valeur, la teneur en substance minérale est calculée en grammes d'hydroxylapatite par cm^3 d'os (SISSONS et al., 1960).

L'évaluation quantitative du remodelage de surface se fait par la mesure des surfaces en résorption et en apposition qui sont rapportées en % de la surface totale. Chaque coupe, observée en lumière transmise, est comparée à la microradiographie correspondante : les surfaces en apposition, les surfaces en résorption et les surfaces inactives sont identifiées d'après les critères de JOWSEY et al. (1965).

Le principe d'évaluation quantitative de ces différents processus est de mesurer, sur les microradiographies, la longueur des contours qui représentent la trace des surfaces dans le plan de coupe, conformément aux principes stéréologiques de l'analyse morphométrique (WEIBEL et ELIAS, 1967).

Pour la mesure de ces surfaces remaniées, les méthodes curvimétrique et d'intégration ont été comparées. Les résultats étant les mêmes, la méthode d'intégration, plus rapide, a été adoptée. Elle consiste à examiner la microradiographie avec un oculaire intégrateur de HENNIG (1958) dans lequel est incorporé un réticule constitué de 6 segments de droite.

La coupe étudiée est entièrement explorée de façon à ce que les champs de lecture ne se recoupent pas. Une dizaine de coupes est examinée, par animal, de façon à avoir au moins 2 000 intersections. Les résultats sont exprimés en % de la surface totale.

L'ostéolyse ostéocytaire est exprimée en pourcentage d'ostéocytes ostéolytiques par rapport au nombre total d'ostéocytes, les ostéocytes ostéolytiques étant les ostéocytes entourés d'un halo coloré et les ostéocytes situés dans des lacunes agrandies dont les parois sont crénelées.

Ces techniques ont été décrites en détail par LOPEZ (1973).

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE I

ÉTUDE DE LA MORPHOLOGIE COMPARÉE, DE L'HISTOGENÈSE ET DU MODE DE SÉCRÉTION DU CORPS ULTIMOBRANCHIAL (C.U.B.) DES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

INTRODUCTION

Depuis sa découverte, des appellations très diverses ont été données au corps ultimobranchial (terme introduit par CREIL en 1905). C'est VAN BEMMELEN (1886) qui, le premier, signale chez les Squales, les Chimères et l'Esturgeon, des formations glandulaires situées au niveau de la paroi péricardique et qu'il appelle « corps suprapéricardiques ». NUSBAUM-HILAROWICZ (1916) situe cette glande, chez les Poissons de profondeur, ventralement par rapport au tractus digestif et la baptise « glande subœsophagienne ». À tous ces noms inspirés, aussi bien chez les Poissons que chez les autres Vertébrés (sauf les Mammifères), par la position anatomique de la glande, celui du corps ultimobranchial (C.U.B.) a été préféré ; il fait référence à son origine embryonnaire. Une étude comparée de la glande (WATZKA, 1933) dans diverses classes de Vertébrés, a montré qu'elle n'existe pas chez les Cyclostomes.

On la trouve chez les Vertébrés Gnathostomes où elle existe sous forme d'un organe individualisé chez les Poissons, les Amphibiens, les Reptiles et les Oiseaux.

Chez ces derniers parfois et chez les Mammifères toujours (VAN DYKE, 1959), les cellules ultimobranchiales migrent dans la thyroïde, assez tôt pendant la vie embryonnaire (PEARSE and CARVALHEIRA, 1967). Dans le dernier groupe, ces cellules sont appelées cellules claires, cellules folliculaires ou cellules C.

Le caractère migratoire des cellules ultimobranchiales est déjà apparent chez les Poissons comme nous le verrons dans ce chapitre (B, § 3).

C'est la liaison anatomique chez les Mammifères des cellules C et de la thyroïde qui a retardé la découverte du rôle physiologique des cellules ultimobranchiales. GORBMAN (1947) a montré que, chez la Souris, le « corps ultimobranchial » qui a envahi le parenchyme thyroïdien n'accumule pas l'Iode 131 et ce résultat a été confirmé par SAXEN et TOIVONEN (1955) chez Xenopus et par SEHE (1960) chez les Amphibiens et les Poissons.

L'existence d'un organe individualisé dans certains groupes de Vertébrés a grandement aidé à la caractérisation de l'hormone sécrétée et à l'étude de son effet.

I — MORPHOLOGIE COMPARÉE ET CARACTÉRISTIQUES CYTOLOGIQUES DU CORPS ULTIMOBRANCHIAL DE QUELQUES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

A. INTRODUCTION.

Chez les Poissons Téléostéens, la structure du C.U.B. a été étudiée assez tôt par de nombreux auteurs (CIACOMINI, 1912 ; CAMP, 1917 ; WATZKA, 1933). KRAWARIK (1936) en a fait une étude appro-

Source : MNHN, Paris

fondie (31 espèces), sans donner cependant aucune notion sur son rôle physiologique éventuel. Il a précisé que la glande se situe toujours ventralement, près de l'œsophage, en direction crâniale par rapport au diaphragme et dorsalement par rapport au sinus veineux. Il a classé la glande, suivant sa position et sa forme en : 1) un organe compact, unique, s'étendant en direction médiane et horizontale entre l'œsophage et le sinus veineux : type Cyprinidés et Anguilla vulgaris ; 2) une glande sous forme de deux lobes semi ou entièrement séparés : type Salmonidés ; 3) une glande plutôt aplatie dans le plan frontal vertical : type Percidés. Pour cet auteur, la structure générale de la glande présente rarement des travées de cellules isolées, mais le plus souvent des cellules combinées en rangées tubulaires autour d'une lumière ; l'épithélium glandulaire est prismatique, en une seule couche de cellules, sauf chez *Salmo irideus* et *Salmo alpinus* où il y en a plusieurs couches.

B. Morphologie comparée du C.U.B. de différentes espèces de Poissons Téléostéens.

Notre étude a porté sur trois groupes de Poissons Téléostéens : les Anguilliformes, les Clupéiformes et les Perciformes.

1. *Anguilliformes.*

Chez l'Anguille argentée mâle (pimpeneau), le corps ultimobranchial a la forme d'un sac délimité par un épithélium. Son aspect est celui d'un follicule de petite taille (fig. 1) formé de cellules prismatiques toutes semblables entourant une large lumière centrale. Une membrane basale, très nette, fortement P.A.S. positive, limite l'organe ; elle est bordée, à l'extérieur, de fins capillaires sanguins, situés dans le tissu conjonctif qui entoure la glande.

Chez l'Anguille femelle, jaune ou argentée, placée en eau douce ou en eau de mer, la glande se présente sous forme de follicules de grande taille. La hauteur épithéliale est comparable à celle observée chez le pimpeneau : les cellules, cubiques, contiennent un noyau basophile et un cytoplasme peu abondant, finement granuleux (fig. 2), elles sont groupées en un épithélium peu épais, entourant une très large lumière (Lopez et al., 1968). Dans la lumière, on trouve fréquemment des déchets cellulaires et parfois, une « pseudocolloïde » dont l'affinité tinctoriale est variable.

Le corps ultimobranchial du Congre présente le même aspect que celui des Anguilles (fig. 3).

2. *Clupéiformes.*

Le corps ultimobranchial, chez les Salmonidés, présente des aspects très diversifiés. Robertson (1969 c) décrit le C.U.B. de la Truite arc-en-ciel comme ayant une structure épithéliale simple, alors que pour Copp (1969), la glande de Truite arc-en-ciel est constituée de cordons cellulaires.

Nous avons montré chez le même animal que la glande se présente sous la forme d'un complexe ovoïde dont l'épithélium contourné forme plusieurs follicules entourant une lumière restreinte (fig. 4). Quelle que soit sa forme, la glande est toujours délimitée par une membrane PAS + et entourée d'un réseau de capillaires sanguins.

Chez les jeunes Saumons — parrs, smolts et pseudo-smolts — (voir Chap. II), le corps ultimobranchial présente le même aspect que chez la Truite (fig. 5). L'épithélium, assez bas, est formé de cellules à cytoplasme clair, peu granuleux et dont le noyau, très basophile, est situé au pôle basal de la cellule.

Par contre, chez les Saumons adultes étudiés au moment de la reproduction, l'aspect de la glande rappelle celui décrit chez les Anguilliformes ; on observe une seule vésicule bordée par un épithélium (fig. 6). Il est probable que les petits follicules ont fusionné entre eux.

Chez les Saumons pêchés sur leur aire d'engraissement, au Croënland, nous avons constaté la présence de cellules calciformes à mucus, semblables à celles présentes dans le tractus digestif proche (fig. 7). Cette particularité du corps ultimobranchial a été signalée chez les Amphibiens (Coleman, 1970) et serait un reste indiquant l'origine endodermique des cellules ultimobranchiales.

Source : MNHN, Paris

3. *Perciformes.*

L'étude du corps ultimobranchial des Poissons Perroquet a porté sur deux espèces : l'une provenant du Pacifique et l'autre de Méditerranée.

Elle nous a permis de mettre en évidence le caractère migratoire des cellules ultimobranchiales, particularité qui n'avait jamais été décrite chez les Poissons. Chez les Scaridés du Pacifique, en effet, ces cellules sont groupées soit en épithélium, soit le plus souvent, et chez le même individu, en longs cordons compacts (fig. 8). La formation glandulaire n'est jamais entourée d'une membrane basale et les cellules polygonales, mobiles, migrent dans les tissus voisins au contact de grands méats sanguins.

Chez *Sparisoma cretense*, Scaridé méditerranéen, la glande présente une forme plus compacte et elle est entourée d'une membrane basale.

4. *Conclusions.*

Les observations faites lors de cette étude de la structure générale du corps ultimobranchial, chez diverses espèces de Poissons Téléostéens, montrent que cette glande peut présenter des aspects très variables d'une espèce à l'autre, mais surtout dépendant de l'état physiologique de l'animal.

C. VARIATIONS DE L'EPITHÉLIUM ULTIMOBRANCHIAL EN FONCTION DE L'ÉTAT PHYSIOLOGIQUE DE L'ANIMAL.

1. *Généralités.*

C'est EGGERT (1938) qui, le premier, a fait la relation entre les différences de structure du corps ultimobranchial et l'état physiologique de l'animal. Il rapporte que chez le *Xiphophonus helleri*, la glande a une structure épithéliale compacte, qui devient folliculaire lorsque le tissu est hypertrophié à la suite d'un traitement à la TSH.

RASQUIN et ROSENBLOOM (1954) provoquent une hypertrophie de la glande en maintenant des *Astyanax mexicanus* à l'obscurité.

Bien que de nombreux auteurs se soient intéressés au corps ultimobranchial de Poissons au début de ce siècle et aient décrit son emplacement et sa structure chez différentes espèces, la cytologie de cet organe et en particulier les critères histologiques de son activité ont été négligés, puisque son rôle physiologique n'était pas connu lorsque nous avons entrepris cette étude. C'est seulement en 1967 que COPP, COCKROFT et KUEH extraient un principe hypocalcémiant (la calcitonine) du C.U.B. d'un Sélacien, et en 1968 COPP et PARKES obtiennent un produit similaire à partir du C.U.B. de Téléostéens, sans toutefois savoir quel rôle cette hormone peut jouer chez les Vertébrés inférieurs et déjà ils mettent l'accent sur l'importance de ce problème. Nous nous sommes attachés, en premier lieu, à établir les critères d'activité des cellules ultimobranchiales puis, en second lieu (comme nous le verrons dans le paragraphe suivant) à les situer en tant que cellules endocrines.

2. *Étude des différents aspects présentés par l'épithélium ultimobranchial.*

Le corps ultimobranchial de Poissons est, nous l'avons vu (Chap. I, B), constitué le plus souvent par un épithélium formé de cellules toutes semblables cubiques (chez l'Anguille, fig. 2) ou plus allongées (chez le jeune Saumon, fig. 5) contenant toujours un noyau très basophile et un cytoplasme clair, peu granuleux. Lorsque la glande est hypertrophiée, l'aspect de l'épithélium change. Il devient hyperplasique, pluristratifié et les cellules qui le constituent présentent trois aspects différents : les cellules situées près de la membrane basale sont cuboïdales, leur cytoplasme renferme des amas de granules sécrétoires et leur noyau présente un gros nucléole colorable (fig. 9). Ce type cellulaire est numériquement très restreint et semble être un reliquat de cellules au repos. Le second aspect cytologique observé est celui que prend la cellule d'une façon prédominante dans l'épithélium glandulaire hyperplasique des Anguilles sexuellement matures (voir Chap. II, § A). Ces cellules sont très allongées et piriformes, leur base étroite est située contre la membrane basale, région voisine de la zone d'irrigation de la glande.

Source : MNHN, Paris

Le cytoplasme, hypertrophié, est le plus souvent dégranulé et contient un noyau volumineux et clair (fig. 10). Les figures de mitoses sont très nombreuses parmi ces cellules (fig. 11-12). Leur pôle apical, arrondi et saillant dans la lumière, est bordé par un feston. Ce feston est formé par des cellules en dégénérescence qui seront expulsées dans la lumière de la glande et qui apparaissent constituées exclusivement d'un noyau pycnotique, leur cytoplasme étant pratiquement inexistant (fig. 10-12) ; ces cellules constituent le troisième type cellulaire.

3. *Discussion et conclusions.*

VU TAN TUE (1970) étudiant la structure histologique du C.U.B. d'un Élasmobranche, la Chimère (*Chimoera monstrosa*), observe deux types de cellules folliculaires ayant une affinité tinctoriale différente pour le rouge acide ; il les appelle cellules claires et cellules sombres. Cet auteur, constatant l'existence de formes de transition entre ces deux différents aspects, en conclut qu'il s'agit de deux stades fonctionnels différents. ROBERTSON (1965) décrivant les « différents types cellulaires » présents dans le corps ultimobranchial de jeunes adultes d'Amphibien (Rana pipiens) suggère un processus de « maturation » des cellules de l'épithélium, comparable à celui que nous venons de décrire. De même que cet auteur (ROBERTSON and BELL, 1965) nous n'avons pu constater nettement cette évolution cytologique des cellules ultimobranchiales que lorsque la glande est hypertrophiée (voir Chap. II).

II – MISE EN ÉVIDENCE, DANS LES CELLULES ULTIMOBRANCHIALES DE POISSONS TÉLÉOSTÉENS, DE CARACTÈRES DES CELLULES À CALCITONINE DES MAMMIFÈRES

A. ÉTUDE HISTOCHIMIQUE DES CELLULES ULTIMOBRANCHIALES. *

Lorsque la preuve fut faite (PEARSE, 1966 a et b), (BUSSOLATI and PEARSE, 1967) que les cellules parafolliculaires ou cellules C de la thyroïde étaient bien le site de production de la calcitonine, la nécessité s'est fait sentir de trouver des méthodes histochimiques de caractérisation de ces cellules. SOLCIA et SAMPIETRO (1968) appliquent aux cellules ultimobranchiales une méthode mise au point pour d'autres cellules endocrines comme celles des îlots pancréatiques et de la muqueuse gastrointestinale. Cette méthode est basée sur la basophilie métachromatique acquise par les granules cytoplasmiques après un traitement prolongé à l'acide chlorhydrique (cf. Matériel et Méthodes).

Selon ces auteurs, les cellules parafolliculaires de la thyroïde du Chien, du Cheval, du Lapin, du Rat et de l'Homme, présentent une réaction positive à la coloration au bleu de toluidine après hydrolyse à l'acide chlorhydrique.

Nous avons appliqué cette coloration à des coupes de corps ultimobranchial d'Anguille, mais nous avons obtenu un résultat négatif.

Une autre coloration signalétique des cellules parafolliculaires des Mammifères est celle à l'hématoxyline au plomb selon STAHL et CARLON (1966). Appliquée au C.U.B. d'Anguille, cette méthode s'est montrée négative lorsque l'organe était fixé au liquide de Bouin et positive dans le cas d'une fixation à la glutaraldéhyde.

Mais, pour les auteurs ayant mis au point cette méthode, le type cellulaire mis en évidence par cette coloration semble différent suivant les espèces animales ; cette coloration n'est pas spécifique des cellules ultimobranchiales. Chez les Téléostéens, elle est aussi positive avec les corticotropes, chez le Chien avec les cellules à LH et MSH.

VU TAN TUE (1970) obtient aussi des résultats négatifs lorsqu'il applique les colorations signalétiques des cellules à calcitonine, au C.U.B. de l'Élasmobranche : *Chimoera monstrosa.*

D'après LIETZ et ZIPPEL (1969), les conditions optimales d'hydrolyse et de coloration varient beaucoup suivant le matériel. Il nous semble donc difficile d'interpréter un résultat négatif chez le Poisson, lorsqu'on applique à ce groupe des techniques mises au point chez les Mammifères.

* Nous remercions M. MOUKHTAR pour l'aide qu'il nous a apportée pour la réalisation de ce travail.

Source : MNHN, Paris

D'une façon systématique, les grains de sécrétion des cellules ultimobranchiales de Poisson sont PAS + et se colorent en bleu par le bleu d'aniline. Ces grains de sécrétion PAS + ne sont pas du glycogène, mais plutôt de nature mucopolysaccharidique. Ces caractéristiques tinctoriales sont aussi trouvées dans les cellules ultimobranchiales d'autres Vertébrés et les cellules C des Mammifères (ROBERTSON and SWARTZ, 1964 a et b).

B. DÉMONSTRATION DE L'APPARTENANCE DES CELLULES ULTIMOBRANCHIALES D'ANGUILLE À LA SÉRIE DES APUD (AMINE, PRECURSOR, UPTAKE, DÉCARBOXYLASE) DÉFINIE PAR PEARSE.

1. *Introduction.*

Parallèlement aux études histochimiques dont nous venons de parler, PEARSE (1966 a, b) se fondant sur certaines caractéristiques cytochimiques et ultrastructurales des cellules C des Mammifères, suggère leur appartenance à un groupe de cellules endocrines dont la propriété commune est de produire des hormones polypeptidiques (cellules à ACTH, cellules à MSH, cellules à insuline et à PTH). L'une des caractéristiques cytochimiques décrites par PEARSE est la propriété qu'ont les cellules C de capter et de concentrer des précurseurs d'amines [le 5-hydroxytryptophane (5 HTP) ou la dihydroxyphénylalanine (DOPA)] et de les transformer en amines fluorogènes.

2. *Mise en évidence du captage par les cellules ultimobranchiales d'Anguille d'un précurseur d'amine : la dihydroxyphénylalanine (DOPA) et de leur faculté de transformer ce produit.*

a) Généralités.

La présence dans les cellules parafolliculaires d'une amine fluorogène (présumée être la 5-hydroxytryptamine : 5-HT ou sérotonine) a été rapportée d'abord par FALCK (1962) chez le Mouton, puis chez la Chèvre et le Cerf.

La méthode utilisée pour démontrer la présence de 5-HT (cf. Matériel et Méthodes) est basée sur la transformation de l'amine endogène en un dérivé B-carboline fluorescent (BARTER and PEARSE, 1953-1955) donc facilement repérable.

Si on injecte des précurseurs de l'amine tels que le 5-HTP ou la DOPA, ils sont concentrés sélectivement par les cellules C et la présence de 5-HT est mise plus facilement en évidence. Dans la série des Vertébrés, le captage de précurseurs d'amines, caractéristique des cellules ultimobranchiales, a été démontré par la méthode de FALCK (cf. Matériel et Méthodes) chez un grand nombre d'Oiseaux (MALMQVIST et al., 1968 ; HACHMEISTER et al., 1967) et chez d'autres animaux tels que la Tortue, le Lézard, le Crapaud et chez plusieurs espèces de Grenouilles, mais jamais dans le groupe des Poissons.

b) Protocole expérimental.

9 Anguilles de poids compris entre 190 et 270 g ont été utilisées pour cette expérience.

6 animaux reçoivent, chacun, une injection intrapéritonéale de L-DOPA (50 mg/kg de poids dissous dans du Ringer).

3 animaux témoins reçoivent, chacun, une injection de Ringer.

Une heure et demie après l'injection, 3 Anguilles du premier lot sont sacrifiées. Les 3 autres le sont 3 heures après l'injection de L-DOPA, ainsi que les 3 animaux témoins.

c) Résultats.

Nous avons montré * que le C.U.B. d'Anguilles ayant reçu une injection de DOPA (cf. Matériel et Méthodes) présente une intense fluorescence spécifique verte, aussi bien chez les animaux sacrifiés 1 h. 1/2 après l'injection, que 3 h. après celle-ci (fig. 13). Toutes les cellules de l'épithélium sont fluorescentes.

Chez les Anguilles témoins (fig. 14), une très faible fluorescence peut être observée, le taux d'amines endogènes devant être faible.

* Avec Mme TISSERAND au Laboratoire du Pr. EYQUEM à l'Institut Pasteur.

Source : MNHN, Paris

La démonstration, ainsi faite, de la capacité qu'ont les cellules ultimobranchiales d'Anguille de capter et de transformer rapidement un précurseur d'amine, la DOPA, en dopamine, nous permet de placer le C.U.B. des Poissons dans la « série des APUD » définie par PEARSE (1968) (APUD = Amine — Precursor — Uptake — Decarboxylase).

3. *Discussion.*

La classification de PEARSE a remis en question l'origine embryonnaire des cellules ultimobranchiales que l'on pensait dérivées de la dernière poche branchiale comme l'avait montré DUDLEY (1942) chez les Oiseaux.

En effet, parmi les cellules APUD, certaines comme les cellules corticotropes et les cellules mélanotropes de l'hypophyse ont une origine ectodermique, tandis que les autres : cellules endocrines du pancréas et entérochromaffines de l'intestin, faisant partie du système endocrinien diffus, sont considérées comme d'origine endodermique. En 1969, PEARSE émit l'hypothèse d'une origine commune de toutes ces cellules qui seraient issues des crêtes neurales, mais il n'a pas alors suffisamment de preuves pour l'affirmer. LE DOUARIN et LE LIÈVRE (1970), utilisant une technique de greffes hétérospécifiques, démontrent l'origine neurale des cellules à calcitonine du corps ultimobranchial de Poulet. En se servant de la DOPA comme marqueur spécifique des cellules APUD, PEARSE et POLAK (1971) montrent que chez la Souris, les cellules C migrant au 8e ou 9e jour ont déjà les propriétés APUD caractérisant les cellules d'origine ectodermique ; ces cellules colonisent la poche branchiale (d'origine endodermique).

Le C.U.B., chez les Oiseaux, possédant plusieurs catégories de cellules (STOECKEL et PORTE, 1967), ce groupe était particulièrement approprié pour expliquer la double origine des cellules de la glande : les cellules dérivant des crêtes neurales colonisant la 5e poche branchiale (LE DOUARIN et LE LIÈVRE, 1970).

Chez les Poissons, nous n'avons observé qu'une seule catégorie de cellules (cf. étude ultrastructurale) et souvent la forme folliculaire de la glande rappelle l'invagination primitive de l'épithélium de la poche branchiale dont elle dérive.

Si on se réfère aux résultats de LE DOUARIN et LE LIÈVRE (1970), en ce qui concerne les Oiseaux, et aux hypothèses de PEARSE pour les Vertébrés supérieurs (PEARSE and POLAK, 1971), on pourrait supposer que chez les Poissons, une migration des cellules des crêtes neurales a remplacé toutes les cellules endodermiques puisque toutes les cellules de l'épithélium ultimobranchial, chez l'Anguille, présentent les caractères APUD. Cependant, certaines observations, telle la présence de cellules à mucus que nous avons décrite chez le Saumon et celle de cils, rapportée par ROBERTSON (1969 c) chez la Truite, plaident en faveur d'une origine endodermique.

Dans le groupe des Vertébrés, l'hypothèse d'une origine ectodermique des cellules à calcitonine repose donc, sauf chez les Oiseaux, uniquement sur la mise en évidence du caractère APUD de ces cellules par la méthode de fluorescence induite ; ce critère n'est pas suffisant pour tirer une conclusion sur l'origine de ces cellules.

C. MISE EN ÉVIDENCE ET LOCALISATION, PAR IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE, DE CALCITONINE DANS LE C.U.B. D'ANGUILLE *.

L'immunofluorescence spécifique est l'une des caractéristiques cytochimiques des cellules APUD et en particulier des cellules C qui appartiennent à ce groupe. De nombreux auteurs ont montré que l'un des produits synthétisés par les cellules C de la thyroïde de Chien et de Rat (BUSSOLATI and PEARSE, 1967) et de bien d'autres Mammifères (KRACHT and al., 1968) était la calcitonine.

La « technique sandwich » de COONS (COONS et al., 1955, cf. Matériel et Méthodes) a permis à VAN NOORDEN et PEARSE (1971 et 1972) de confirmer que le C.U.B. est bien source de calcitonine, chez les Batraciens et chez les Sélaciens.

Cette technique appliquée à des coupes de C.U.B. d'Anguilles (l'antisérum étant constitué par un

* Travail réalisé avec Mme TISSERAND au Laboratoire du Pr. EYQUEM à l'Institut Pasteur.

Source : MNHN, Paris

sérum humain anti-calcitonine de Saumon) révèle une fluorescence homogène localisée aux cellules de l'épithélium du C.U.B. L'hormone est répartie de façon homogène dans toutes les cellules de l'épithélium glandulaire et est absente de la lumière. Cette réaction peut être inhibée spécifiquement par la CT de Saumon, mais non par la CT humaine synthétique (TISSERAND et al., 1976, TISSERAND et al., 1977). Ce résultat apporte une preuve directe au fait que le C.U.B. d'Anguille est une source de CT.

III — CARACTÉRISTIQUES ULTRASTRUCTURALES DES CELLULES ULTIMOBRANCHIALES DES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

1. *Introduction.*

Alors que le C.U.B. est étudié au microscope électronique par de nombreux auteurs chez les Amphibiens, les Oiseaux, les Mammifères et surtout chez le Rat (ROBERTSON, 1965 ; ROBERTSON and BELL, 1965 ; COLEMAN and PHILLIPS, 1972-1974 ; COLEMAN, 1970-1972-1975 ; STOECKEL et PORTE, 1967-1969 a et b, 1970 ; LE DOUARIN, 1970 ; YOUSHAK and CAPEN, 1971 ; ISLER, 1973 ; PEARSE and WELSCH, 1968 ; COLLIN et BARLET, 1972 ; JORDAN et al., 1973 ; EKHOLM and ERICSON, 1968 ; STACHURA and PEARSE, 1970 ; WOLLMAN and NEVE, 1971 ; NEVE and WOLLMAN, 1971 ; CALVERT, 1972-1975), l'étude ultrastructurale de ces cellules glandulaires a été négligée chez les Poissons.

COPP (1969) a décrit le corps ultimobranchial d'un Élasmobranche (*Squalus acanthias*) comme un épithélium contenant deux types de cellules : des cellules claires — à noyau pâle — contenant peu de mitochondries et peu de granulations, et des cellules sombres — à noyau foncé — dans lesquelles les mitochondries et les granulations sont plus nombreuses. Il décrit une décharge de ces granulations dans la lumière folliculaire, par le pôle apical d'une cellule sombre ; les documents ultrastructuraux permettant cette observation sont peu satisfaisants. La même année, ROBERTSON faisant une étude ultrastructurale du C.U.B. de Truite (*Salmo gairdnerii*) ne décrit qu'un seul type de cellules columnaires. La présence de « microvilli », de cils et d'une activité pinocytique observés à l'apex de ces cellules permet à cet auteur de dire qu'il s'agit d'un reste de caractère d'épithélium d'absorption ; le manque de bordure en brosse et de polarisation des mitochondries lui fait cependant rejeter ensuite cette hypothèse. Les autres caractéristiques de ces cellules conduisent enfin ROBERTSON à penser qu'elles ont une fonction sécrétoire.

2. *Résultats.*

L'étude au microscope électronique du corps ultimobranchial d'Anguilles témoins, ainsi que celle de cette glande hypertrophiée (chez des Anguilles rendues hypercalcémiques par des injections d'extrait hypophysaire de Carpe) nous a permis de dégager les caractères ultrastructuraux suivants.

Il apparaît que l'épithélium ultimobranchial est formé d'un seul type de cellules, ce qui confirme nos observations faites au microscope photonique.

Les grains de sécrétion sphériques sont nombreux dans les cellules ultimobranchiales d'Anguilles témoins et dispersés dans tout le cytoplasme. Ils sont composés d'un noyau dense entouré d'un halo clair séparé du hyaloplasme par une membrane d'origine Golgienne.

Dans les cellules hypertrophiées du C.U.B., ces grains de sécrétion sont moins abondants et on les trouve dans les zones riches en mitochondries ou près de l'appareil de Golgi (fig. 15). Nous n'avons jamais pu observer l'expulsion de ces granules, ni au pôle apical (comme le décrit COPP, 1969), ni au pôle basal.

L'ergastoplasme agranulaire est abondant et très dilaté, chez les Anguilles témoins. Cette dernière observation semble être une particularité des cellules ultimobranchiales de Poisson.

Chez les Anguilles hypercalcémiques, on peut observer un ergastoplasme granulaire très développé (fig. 16). Des accumulations de fins microfilaments (ou microfibrilles) sont visibles dans les cellules contenant peu de granulations (fig. 17).

Près du pôle apical, les membranes latérales sont modifiées, comme dans la plupart des épithéliums, en zonula occludens et en desmosomes. Chez les Anguilles rendues hypercalcémiques, l'espace

Source : MNHN, Paris

intercellulaire s'élargit énormément au-delà du desmosome, formant de larges méats entre les cellules (fig. 18).

Au pôle basal de la cellule, de nombreuses vésicules de pinocytose sont visibles, suggérant un échange de substances avec le réseau de capillaires proche.

3. *Conclusions et discussion.*

Tous les caractères des cellules ultimobranchiales de l'Anguille, y compris la labilité des mitochondries, sont communs aux cellules produisant des hormones polypeptidiques faisant partie de la série APUD.

Nous pouvons donc définitivement les classer dans cette catégorie.

Le mode de sécrétion de la cellule ultimobranchiale n'a pas été clairement défini dans les divers groupes de Vertébrés. Chez les Anoures, ROBERTSON (1965) a suggéré une polarité de la distribution des granulations dans le cytoplasme basal, vers le réseau de capillaires proche. De même, chez les Mammifères, les cellules parafolliculaires de la thyroïde sont caractérisées par des granulations cytoplasmiques (AZZALI, 1964 ; STOECKEL et PORTE, 1967) dont la polarité de sécrétion est dirigée vers le plasmalemme basal (MATSUZAWA and KUROSUMI, 1967 ; BARLET, 1971). COLEMAN (1975) observe chez Rana pendant la période de métamorphose des espaces clairs suggérant une dégranulation partielle, mais il conclut que la façon dont se fait cette décharge n'est pas claire.

Les nombreuses vésicules de pinocytose que nous avons observées à la base de la cellule et au niveau des membranes latérales, et les microvésicules abondantes à l'apex ainsi que dans le cytoplasme suggèrent dans le C.U.B. de l'Anguille l'existence d'importants échanges intervenant entre les espaces extracellulaires et intracellulaires et tout particulièrement au pôle basal avec les capillaires sanguins.

CONCLUSIONS ET DISCUSSION

Dans la série des Vertébrés, le corps ultimobranchial (C.U.B.) présente une structure folliculaire assez comparable d'un groupe à l'autre et entre les différentes espèces, sauf chez les Téléostéens Scaridés chez lesquels, comme nous l'avons montré, le caractère migratoire des cellules épithéliales apparaît nettement et chez certains Oiseaux où l'on peut observer très distinctement deux catégories de cellules (STOECKEL et PORTE, 1969 a, 1970). L'étude morphologique, en lumière transmise, du C.U.B. des Poissons, nous a permis, en premier lieu, de localiser cet organe (non visible à l'œil nu) et ainsi d'envisager, chez une espèce, l'Anguille, la possibilité d'une ablation ; en second lieu, nous avons vu que l'épithélium ultimobranchial peut prendre des aspects très différents lorsque la glande est hypertrophiée. Nous avons pu ainsi déterminer différents critères cytologiques d'activité très précis, nécessaires à la détermination du rôle physiologique de cet organe.

Les cellules ultimobranchiales de Poisson, ainsi que nous l'avons mis en évidence (captage de précurseur d'amine fluorogène) peuvent être classées définitivement dans le groupe des cellules APUD ; elles présentent des caractères ultrastructuraux tout à fait comparables à ceux des cellules C de la thyroïde des Mammifères et elles contiennent de la calcitonine. MELANDER et al. (1971 a et b) étudiant la stimulation de l'activité du C.U.B., chez le Poulet, et des cellules C, chez la Souris, pensent que l'amine endogène est impliquée dans la sécrétion de l'hormone polypeptidique.

Il subsiste encore un doute quant à l'origine embryonnaire des cellules à calcitonine, est-elle d'origine ectodermique, ainsi que PEARSE (1969) et LE DOUARIN et LE LIÈVRE (1970) le supposent, ou bien endodermique comme cela était généralement admis. Nos travaux ne permettent pas de répondre à cette question ; nous avons toutefois montré qu'il n'existe qu'une seule sorte de cellules dans le C.U.B. des Poissons.

Les observations faites sur des C.U.B. hyperactifs ne nous permettent pas de définir le mode de sécrétion exact de la glande. Il ne semble pas toutefois qu'il y ait extrusion des grains de sécrétion, ceux-ci serviraient de support à l'hormone qui serait déchargée au niveau des capillaires sanguins dilatés, très nombreux, et entrant en contact étroit avec le pôle basal des cellules quand la glande est stimulée.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE II

VARIATIONS DE L'ACTIVITÉ DU CORPS ULTIMOBRANCHIAL (C.U.B.) EN RELATION AVEC DES FACTEURS NATURELS ET EXPÉRIMENTAUX PROVOQUANT DES FLUCTUATIONS DE LA CALCÉMIE ET DES MODIFICATIONS DU MÉTABOLISME CALCIQUE, CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

INTRODUCTION

Les données sur le rôle de la calcitonine dans la régulation du métabolisme calcique chez les Poissons et sur le mode de régulation de la sécrétion de cette hormone sont très contradictoires (URIST, 1967 ; PANC and PICKFORD, 1967 ; LOUW et al., 1967 ; CHAN et al., 1968).

Avant d'étudier l'action de la calcitonine exogène chez les Poissons (Chap. III), il était nécessaire de savoir si des perturbations naturelles ou expérimentales du métabolisme calcique s'accompagnaient de modifications du corps ultimobranchial.

I — FLUCTUATIONS NATURELLES DE LA CALCÉMIE ET ACTIVITÉ DU C.U.B.

A. ÉTUDE DU C.U.B. DU SAUMON ATLANTIQUE AU COURS DE SON CYCLE VITAL MIGRATOIRE.

1. *Cycle migratoire du Saumon.*

Tous les Saumons utilisés pour ce travail proviennent du Bassin de l'Adour.

Le jeune Saumon ou « parr » *, dont la robe ressemble à celle de la Truite, subit, au printemps, à l'âge d'un an, de deux ans et plus, rarement de 3 ans (VIBERT, 1950) une transformation physiologique : la smoltification.

Le « smolt » est un poisson plus allongé, à robe argentée (couleur due à un dépôt de guanine sur les écailles) et à nageoires pigmentées. Lors des crues printanières, les smolts sont entraînés vers la mer, effectuant ainsi leur migration catadrome.

En mer, le Saumon a une croissance très active. Après un séjour de un à quatre ans, le Saumon entreprend sa migration anadrome : il remonte sa rivière natale pour s'y reproduire (« Saumons de montée »). La reproduction a lieu en décembre (« Saumons de frayères »), après quoi la plupart des animaux meurent. Quelques-uns survivent cependant et entreprennent, au printemps suivant la fraye, une nouvelle migration catadrome suivie, après un séjour en mer, d'une remontée vers les frayères. Ces animaux sont appelés « mended ».

* La terminologie anglaise est adoptée en l'absence d'une terminologie française adéquate.

Source : MNHN, Paris

2. *Protocole expérimental.*

Pour cette étude, les Saumons ont été sacrifiés sur les lieux de pêche à deux époques de l'année.

a) Au printemps, en avril, ont été pêchés dans le Cave d'Oloron de jeunes Saumons (de poids généralement inférieur à 60 g) :

— parrs mâles, dits ici « de printemps » ;

— parrs-smolts, c'est-à-dire des Poissons commençant à prendre la livrée argentée, mais ne migrant pas ;

— smolts en cours de migration catadrome.

Des Saumons adultes dont le poids variait de 2 à 10 kg furent capturés dans les Caves réunis à Peyrehorade (Landes) :

— Saumons de montée en migration anadrome vers les frayères ;

— mended, Saumons s'étant reproduits l'hiver précédent et redescendant vers la mer.

b) En hiver, au mois de janvier, sont pêchés sur les frayères dans le Cave d'Oloron :

— Saumons adultes frayant ;

— parrs mâles, dits ici « d'hiver » dont un lot fut rapporté au Laboratoire à Paris. Au bout de quelques semaines, ces animaux prennent une robe argentée. On les appelle « pseudo-smolts » car leur livrée, bien que nettement argentée, n'est pas exactement celle du smolt (les nageoires sont notamment plus noires que celles des smolts capturés dans la nature). Ils ont été sacrifiés en mars au laboratoire. Les prélèvements de sang et de la région du C.U.B. sont faits immédiatement après le sacrifice.

3. *Modifications observées.*

a) au niveau du sang.

Les dosages de calcium sanguin effectués sur ces animaux ont révélé des différences, pas toujours significatives, entre parrs et smolts (tableau n° 1 a).

Par contre, du Saumon adulte de montée au Saumon de frayères, on observe une chute de la calcémie de 25 à 35 % (FONTAINE et al., 1969) (tableau n° 1 b). Les mended ont une calcémie moyenne de 95,4 mg/l.

b) au niveau du C.U.B.

Le C.U.B., chez le jeune Saumon, se présente comme un organe compact formé des vésicules obstruant en partie la lumière de la glande (cf. Chap. I). Chez le Saumon au stade « parr », l'épithélium de la glande est bas. Les cellules, à cytoplasme clair, peu granuleux, ont un noyau très basophile, à nucléole peu apparent, situé à leur base. Leur apex contient quelques amas de granulations PAS +. Contre la membrane basale, dans le conjonctif, on peut observer de petits vaisseaux sanguins. C'est l'image d'une glande peu active (fig. 19).

Le corps ultimobranchial, chez les smolts, parr-smolts et pseudosmolts a un aspect analogue à celui qui vient d'être décrit. Aucune différence notable n'est à constater (fig. 20). Par contre, chez les Saumons adultes, en migration anadrome, l'épithélium du C.U.B. est replié en « S » (fig. 21), il en résulte une augmentation de la surface d'échange entre les cellules et le sang. Les vaisseaux sanguins sont d'ailleurs très nombreux, dilatés. Les noyaux sont situés à la base des cellules et présentent souvent des figures de mitoses. Le cytoplasme est rempli de granulations PAS +, très fines, à la limite du pouvoir de résolution du microscope optique (fig. 22). À l'étude histochimique (voir Matériel et Méthodes) ces granulations se sont révélées de nature mucopolysaccharidique. Elles ne contiennent pas de glycogène. À ce stade, la glande est en phase de stockage.

Chez le Saumon de frayère, l'épithélium du C.U.B. présente un aspect totalement modifié. Il est très haut, formé de cellules piriformes (fig. 23) dont le cytoplasme est clair, vidé de ses granulations ; la partie apicale, renflée, est vacuolisée. Les noyaux, très allongés, sont peu basophiles et renferment

Source : MNHN, Paris

deux ou trois gros nucléoles très colorables (fig. 24). Vers la lumière de la glande, on trouve des cellules pycnotiques accolées à la membrane apicale et donnant un aspect festonné au bord de l'épithélium. Ces cellules en dégénérescence sont souvent associées à des plaques de colloïde PAS + (fig. 25). Les vaisseaux sanguins prennent une forme triangulaire, un angle repoussant la membrane basale et pénétrant en coin dans l'épithélium (fig. 26).

Tous les caractères que nous venons de décrire sont autant de critères d'activité d'une glande qui est probablement en pleine période de déplétion. Au stade « mended », nous observons une dégénérescence complète du C.U.B. (fig. 27). On rencontre encore des amas de cellules actives, mais voisinant d'une façon anarchique avec des déchets cellulaires et des noyaux pycnotiques (fig. 28).

TABLEAU n° 1 (a et b). — Évolution de la calcémie au cours du cycle migratoire de Salmo salar.

(a)

	Calcémies (mg/l)	
	1967	1968
Parrs	121,0 ± 4,2 (13)*	128,4 ± 2,6 (12)
Smolts	117,0 ± 2,2 (13)	115,2 ± 1,4 (18)
Signification**	N.S.	H.S.

(b)

	Calcémies (mg/l)	
	♀	♂
Saumons de montée	118,0 ± 3,6 (8)	107,4 ± 11,0 (4)
Saumons de frayères	82,0 ± 4,2 (4)	80,0 ± 3,0 (9)
Signification	H.S.	H.S.

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.
** Signification de N.S., S et H.S., valable pour tous les tableaux.
N.S. (non significatif) $0{,}05 < p$
S (significatif) $0{,}05 > 0{,}01$
H.S. (hautement significatif) $p < 0{,}01$

4. *Discussion.*

Le déterminisme des variations du taux de calcium sanguin, observées chez le Saumon à diverses étapes de son cycle vital, est assez complexe.

Chez le smolt, la thyroïde et l'interrénal sont hyperactifs (FONTAINE et al., 1952, 1954, 1957). Or la thyroxine (CHARTIER-BARADUC, 1968) et l'ACTH (FLEMING et al., 1964) injectées à des Poissons sont hypocalcémiantes. De même, les corpuscules de Stannius, glandes dont l'ablation entraîne, chez l'Anguille, une forte hypercalcémie (FONTAINE, 1964, 1967) apparaissent plus actifs chez les smolts que chez les parrs (FONTAINE et LOPEZ, 1965 ; LOPEZ, 1969). Une intervention de ces trois formations endocrines peut donc être envisagée pour réguler la calcémie des smolts et l'action de la calci-

Source : MNHN, Paris

tonine semble à écarter, le corps ultimobranchial ne présentant pas de variations d'activité d'un stade à l'autre, chez les jeunes Saumons.

Il n'en est pas de même chez les Saumons adultes. En effet, l'activité thyroïdienne baissant du Saumon de montée au Saumon frayant (FONTAINE et LELOUP, 1962) et l'intensité du fonctionnement surrénalien n'augmentant pas (LELOUP-HATEY, 1964 a et b), ces deux hormones ne peuvent être mises en cause dans la régulation du taux de calcium sanguin.

Par contre, les corpuscules de Stannius interviennent (LOPEZ, 1969) ainsi que le C.U.B. qui présente des signes d'hyperactivité : la glande, en état de stockage intense pendant la montée des Saumons est en « déplétion » pendant la fraye. On peut supposer qu'une sécrétion intense de calcitonine (CT) a lieu avant la ponte (DEVILLE et LOPEZ, 1970). Ce résultat est en accord avec le récent travail de WATTS et al. (1975) qui, dosant la CT dans le plasma du Saumon du Pacifique (Oncorhynchus nerka) à différents stades de sa migration anadrome, en déduit que le taux de cette hormone croît d'une façon très significative jusqu'à la fraye et chute très vite après celle-ci. Ces auteurs émettent d'ailleurs l'hypothèse d'un rôle direct de la CT dans le cycle de reproduction des Poissons.

Nous pensons, pour notre part, que pendant cette période d'évolution sexuelle où le Saumon a besoin de mobiliser du calcium pour l'élaboration des produits génitaux ou de formations osseuses (dents) (FONTAINE et al., 1969) et chez lequel une résorption osseuse a été décrite (TCHERNAVIN, 1938), la calcitonine joue un grand rôle, en protégeant le squelette d'une déminéralisation, comme cela a été décrit chez les Mammifères (MILHAUD et MOUKHTAR, 1966 ; MILHAUD et al., 1966). LEWIS et al. (1971) ont suggéré que la calcitonine pouvait protéger le squelette des femmes enceintes ou allaitant, contre une déminéralisation excessive, lorsque le besoin de calcium pour le fœtus est grand. BARLET et CAREL (1974) ont démontré que cela est vrai chez les ruminants, en dosant le taux de calcitonine circulante chez des Chèvres et des Brebis gestantes et allaitant.

B. MODIFICATIONS DE CERTAINS PARAMÈTRES DU MÉTABOLISME CALCIQUE, À LA SUITE DU DÉVELOPPEMENT SEXUEL NATUREL D'UN APODE : LE CONGRE.

1. *Migration du Congre.*

Les Congres que nous avons étudiés, vivant dans les rochers côtiers, proviennent du Golfe de Gascogne. Au printemps, ces animaux effectuent ce que MOUSSET (1957) appelle une « catadromie relative » : ils migrent vers les profondeurs où ils frayent. Ces Congres femelles, très évolués sexuellement, sont appelés « Congres caoutchouc » à cause de la mauvaise qualité de leur chair. Ils peuvent être pêchés au large ; PERARD (1929) en a signalé aux Halles de Paris. Au Musée de la Mer, à Biarritz, des Congres sont maintenus dans des aquariums d'eau de mer où ils se développent normalement. Au bout de quatre ans, au printemps, ils commencent à évoluer sexuellement (MOUSSET, 1957). L'état physiologique des femelles se détériore, elles jeûnent et les ovaires se développent d'une façon très importante.

2. *Protocole expérimental.*

Les sacrifices et les prélèvements de sang et du C.U.B. ont été faits sur place, sur 4 animaux immatures et 6 femelles sexuellement matures.

Le rapport gonosomatique est calculé :

$$\text{RCS} : \frac{\text{Poids des gonades}}{\text{Poids du corps}} \times 100$$

3. *Modifications observées.*

a) au niveau du sang.

La calcémie croît notablement, lors de la maturation sexuelle naturelle du Congre (FONTAINE et al., résultats inédits) (tableau n° 2).

Source : MNHN, Paris

TABLEAU n° 2. — Relation entre la calcémie et le rapport gonosomatique chez le Congre.

	Rapport gonosomatique (RGS)	Calcémie mg/l
Congres immatures	RGS < 5	112,6 ± 1,6* (4)
Congres ♀ sexuellement matures	12 < RGS < 20	161,5 ± 18,2 (6)
Signification		H.S.

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.

b) au niveau du corps ultimobranchial.

Chez les Congres immatures, l'épithélium ultimobranchial est constitué de cellules cubiques, à cytoplasme faiblement granuleux, possédant un noyau basophile à nucléole peu apparent (fig. 29).

Chez les Congres femelles évolués sexuellement, l'épithélium est deux fois plus haut que chez les Congres immatures. Il est très contourné, hyperplasique et formé de cellules très hypertrophiées, remplies de granulations PAS + et présentant un noyau clair à gros nucléole colorable (fig. 30). Le réseau de capillaires sanguins entourant la glande est très important et les vaisseaux, dilatés, ont une forme triangulaire très caractéristique, ainsi que nous l'avons déjà signalé dans d'autres cas d'hyperactivité (Chap. II, § I, A, 3e, b).

4. *Discussion et conclusions.*

L'élévation de la calcémie constatée chez les Congres femelles sexuellement matures est provoquée, en grande partie, par la décharge de calcium venant du tissu osseux. En effet, chez ces animaux, l'étude histologique de l'os vertébral a montré que celui-ci est le siège d'une forte résorption (LOPEZ, 1973) : le nombre des ostéoclastes est trois fois plus élevé que celui des Congres immatures. Pourtant, certains de ces ostéoclastes sont en voie de dégénérescence.

Parallèlement à l'augmentation du taux de calcium sanguin, nous observons des images de stimulation du C.U.B.

Nous formulons l'hypothèse d'une sécrétion accrue de calcitonine, consécutive à l'hypercalcémie, hormone qui, bien qu'impuissante à juguler l'augmentation du taux de calcium sanguin, tend pourtant à réduire la résorption ostéoclastique, comme le donne à penser la dégénérescence de certains ostéoclastes.

Il ne faut pas négliger, dans ce cas, l'éventualité d'une influence, sans doute indirecte d'ailleurs, des hormones sexuelles sur la sécrétion de CT. En effet, DACKE et al. (1972) ont montré, chez la Caille Japonaise, des variations de la concentration de CT plasmatique pendant le cycle d'ovulation de la femelle. Ces mêmes auteurs ont trouvé récemment (1976) que le taux de CT sanguin augmentait considérablement avant la maturation, puis baissait au moment de la ponte.

C. RELATIONS EXISTANT ENTRE L'ACTIVITÉ DU C.U.B. ET LE RÉGIME ALIMENTAIRE DE CERTAINS SCARIDÉS (POISSONS PERROQUET) DU PACIFIQUE ET DE MÉDITERRANÉE.

1. *Introduction.*

Les Poissons de la famille des Scaridés présentent des caractères anatomiques très particuliers de la région buccopharyngienne, caractères liés à un régime alimentaire très spécial (MONOD, 1956).

Source : MNHN, Paris

En effet, ces animaux, vivant dans les récifs coralliens, se nourrissent en broutant les madrépores. Leur tube digestif est distendu par une poudre dure, riche en calcium, qui provient manifestement de ces coraux. Il était intéressant de se demander si, à la richesse en calcium de leur régime alimentaire, correspondent, chez ces animaux, des modifications de leur métabolisme calcique et en particulier de l'activité du corps ultimobranchial.

2. *Protocole expérimental.*

Dans un premier temps, nous avons comparé la calcémie et l'activité du C.U.B. des Scaridés capturés aux Îles Gambier, à celles de Téléostéens n'ayant pas une alimentation corallienne (Neothunnus albacora, Gymnosarda nuda, Euthynnus aliteratus). Dans un deuxième temps, nous avons pu comparer des Scaridés brouteurs de coraux provenant du Pacifique (de l'atoll de Rangirora) à des Scaridés méditerranéens dont l'alimentation n'est pas particulièrement riche en calcium. Les prélèvements de sang et du C.U.B. ont été faits sur place.

3. *Modifications observées.*

a) au niveau sanguin.

La calcémie des Scaridés du Pacifique est significativement plus élevée que celle des Téléostéens ne se nourrissant pas de coraux, et pêchés dans les mêmes eaux (tableau n° 3) appartenant au groupe des Thons. Seuls les Poissons immatures sont pris en considération dans cette étude. La moyenne des calcémies des Scaridés méditerranéens est de 128,4 ± 9,2 mg/l.

TABLEAU n° 3. — Comparaison entre les calcémies des Scaridés et d'autres Poissons Téléostéens du Pacifique.

	Calcémie (mg/l)
Poissons Perroquets	185 ± 8,9 * (10)
Thons	148 ± 12,8 (5)
Significations	S

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.

b) au niveau du C.U.B.

À l'examen histologique, le C.U.B. des Scaridés du Pacifique, brouteurs de coraux (aussi bien ceux provenant des Îles Gambier que ceux de Rangirora) se présente sous un aspect bien particulier (Chap. I, 1, B). Les cellules ultimobranchiales forment des cordons et semblent capables de migrer dans les tissus entourant la glande (fig. 8). Celle-ci présente tous les critères cytologiques d'une activité importante : de nombreuses figures de mitose, une irrigation intense et les trois stades cellulaires que nous avons décrits comme étant caractéristiques du C.U.B. actif (fig. 31).

Chez les Sparisoma cretense méditerranéens (qui ne se nourrissent pas de coraux) la glande est beaucoup plus compacte, formée de nombreux follicules. L'épithélium est entouré d'une membrane

Source : MNHN, Paris

basale PAS +. L'épithélium glandulaire est bas, formé de petites cellules à noyaux basophiles dont le cytoplasme est peu granuleux (fig. 32). La vascularisation est assurée par de petits vaisseaux sanguins situés au contact de l'épithélium. L'ensemble de ces observations suggère qu'il s'agit d'une glande au repos. De même, le C.U.B. des Poissons du Pacifique ne se nourrissant pas de coraux (Neotbunnus albacora, Gymnosarda nuda et Euthynnus aliteratus) présente l'aspect d'un organe au repos.

4. *Discussion.*

Chez les Scaridés, la plus ou moins forte teneur en calcium du régime alimentaire semble bien déterminer une plus ou moins grande activité fonctionnelle du C.U.B. et des corpuscules de Stannius, autres formations endocrines impliquées dans la régulation du métabolisme calcique.

En effet, les observations histologiques faites sur ces glandes, lors de ce travail, incitent à conclure qu'elles sont au repos chez les Scaridés méditerranéens, mais en état de grande activité chez les Scaridés du Pacifique (FONTAINE et al., 1973).

De plus, la détermination du degré de minéralisation de l'os (acellulaire) des Scaridés du Pacifique a révélé une valeur élevée : 1,33 gramme de substance minérale/cm³ d'os. Cette teneur moyenne en substance minérale est en effet supérieure à celles observées chez plusieurs espèces de Téléostéens, soit de nos eaux (Anguilla anguilla, Salmo gairdnerii), soit du Pacifique (Gymnosarda nuda, Néothunnus albacora, Euthynnus aliteratus) (FONTAINE et al., 1974). Ceci peut être attribué, en partie, à l'action de la calcitonine endogène sécrétée par un C.U.B. hyperactif. En effet, nous avons montré récemment (LOPEZ et al., 1976 a) que la CT synthétique de Saumon, administrée à des Anguilles femelles argentées maintenues en eau de mer, provoquait une augmentation de la minéralisation du tissu osseux qui atteint alors une valeur voisine de celle trouvée chez les Scaridés brouteurs de coraux.

II – MODIFICATIONS EXPÉRIMENTALES DU MÉTABOLISME CALCIQUE ET ACTIVITÉ DU C.U.B.

A. ÉVOLUTION SEXUELLE EXPÉRIMENTALE DE L'ANGUILLE PAR INJECTIONS D'EXTRAITS HYPOPHYSAIRES DE CARPE.

1. *Introduction.*

Nous avons montré dans la première partie de ce chapitre, que la maturation sexuelle naturelle du Saumon et du Congre entraînait des perturbations du métabolisme calcique. De nombreux auteurs (BAILEY, 1957 ; CLARK et FLEMING, 1963 ; FLEMING et MEIER, 1961 a et b ; FLEMING et al., 1964 ; OGURI et TAKADA, 1967) ont décrit une hypercalcémie chez les Poissons femelles Téléostéens, après injections d'œstradiol et au moment de la reproduction. En provoquant expérimentalement (par injections d'extraits hypophysaires de Carpe) l'évolution des gonades jusqu'à la maturation, chez l'Anguille femelle, FONTAINE et al. (1964) observent une forte augmentation de la calcémie et de la phosphatémie. Nous avons, chez l'Anguille, recherché si l'hypercalcémie associée à la maturation sexuelle expérimentale, entraînait une modification des caractères cytologiques du corps ultimobranchial.

2. *Protocole expérimental.*

Les Anguilles femelles argentées (provenant de la Somme) utilisées pour cette expérience ont un poids moyen de 500 g. Elles sont maintenues en eau de mer (t = 17 à 18° C) pendant toute la durée du traitement. L'extrait hypophysaire de Carpe* est préparé et injecté selon le protocole décrit par FONTAINE et al. (1964).

Dans un premier temps, les animaux ont été séparés en deux lots :

* La poudre acétonique d'hypophyse de Carpe nous est fournie par les Stoller Fisheries, Spirit Lake, Iowa, U.S.A.

Source : MNHN, Paris

a) 8 Anguilles femelles argentées reçoivent, deux fois par semaine, des injections intrapéritonéales de 0,5 mg, puis de 1 mg pour 100 g de poids, par injection, d'extrait hypophysaire de Carpe, ceci pendant trois mois environ. À ce moment, les signes avant-coureurs d'une complète évolution génitale apparaissent : tête effilée, ventre distendu, pore génital gonflé.

6 de ces Anguilles sont sacrifiées au moment de l'ouverture du pore génital. La 7e Anguille est sacrifiée 42 jours après la ponte et la dernière deux mois après. La teneur en calcium total sanguin de tous ces animaux est très élevée : entre 200 et 1 423 mg/l pour les 6 premiers, et respectivement 2 000 mg/l et 1 000 mg/l pour les deux derniers. Leur rapport gonosomatique est compris entre 25 et 40.

b) 6 Anguilles femelles argentées sont maintenues en eau de mer pendant toute la durée de l'expérience et servent de témoins. Leur calcémie moyenne est de 120 ± 7,2 mg/l.

Dans un deuxième temps, 4 Anguilles femelles argentées ont reçu des injections hebdomadaires d'extraits hypophysaires de Carpe à raison de 1 mg/100 g poids par injection. Ces animaux ont été sacrifiés en cours de traitement : l'une au bout de 14 injections, deux après 17 injections, la quatrième a pondu spontanément au bout de cinq mois de traitement et a été sacrifiée aussitôt après. Leurs rapports gonosomatiques et leurs calcémies sont résumés dans le tableau n° 4.

TABLEAU n° 4. — RGS et calcémies des Anguilles sacrifiées à différents temps de leur évolution génitale.

Anguilles ♀ argentées	Nombre d'injections d'E.H.C.*	RGS**	Calcémies mg/l
A	14	10	115
B	17	21	220
C	17	29	460
D	20	Ponte spontanée	500

* E.H.C. = extrait hypophysaire de Carpe.
** RGS = rapport gonosomatique.

3. *Modifications observées chez l'Anguille mature.*

a) au niveau du sang.

La première partie de l'expérience montre que l'élévation de la calcémie décrite par FONTAINE (1964) après injections d'extrait hypophysaire de Carpe est considérable. En effet, chez les Anguilles mûres, la calcémie peut atteindre des valeurs plus de dix fois supérieures à celles des témoins.

La deuxième partie de l'expérience met en évidence le fait que cette hypercalcémie est progressive : elle n'apparaît qu'à la fin du traitement à l'hypophyse de Carpe (au bout de 17 injections) (tableau n° 4).

b) au niveau du C.U.B.

Chez les animaux témoins, l'épithélium ultimobranchial est bas, formé de petites cellules cubiques dont le noyau très basophile est entouré de cytoplasme peu granuleux (fig. 2) (cf. Chap. I).

Source : MNHN, Paris

Chez les Anguilles mûres, hypercalcémiques, l'aspect général de la glande est très modifié (fig. 33). Celle-ci est hypertrophiée. L'épithélium, hyperplasique, forme de gros bourgeons en collapsus qui tendent à obstruer la lumière. L'épithélium est deux, trois et parfois quatre fois plus haut que celui des témoins ; il est formé de cellules à divers stades d'activité (cf. Chap. I). Les mitoses sont très nombreuses (fig. 34-36). Les vaisseaux sanguins sont plus nombreux et très larges ; ils prennent la forme triangulaire caractéristique (fig. 35).

Lorsque nous avons sacrifié les Anguilles au cours de leur évolution sexuelle, nous avons constaté que les signes d'hyperactivité n'apparaissent, dans le C.U.B., que lorsque le taux de calcium sanguin est très augmenté. Le C.U.B. de l'Anguille A (cf. tableau n° 4) a l'aspect d'une glande au repos, alors que chez les Anguilles B et C, l'organe présente des signes d'hyperactivité qui sont encore plus marqués dans le C.U.B. de l'Anguille D (fig. 37-38) dont la calcémie est la plus élevée.

4. *Discussion.*

Chez les Anguilles mûres, l'étude du tissu osseux vertébral a montré que celui-ci était le siège d'une forte résorption (LOPEZ, 1973). L'ostéolyse ostéocytaire est importante dès le début de l'évolution sexuelle expérimentale (Anguille A, tableau n° 4), alors que la résorption ostéoclastique ne se manifeste que plus tard, lorsque le rapport gonosomatique est déjà très élevé (Anguille B, tableau n° 4).

Cette étude du dérèglement du métabolisme calcique qui se produit chez l'Anguille, lors de l'évolution sexuelle provoquée expérimentalement, nous conduit à penser que l'augmentation du taux de calcium sanguin étant concommitante de l'apparition des ostéoclastes, l'hypercalcémie est bien due à cette forme de résorption osseuse. C'est lorsque la calcémie croît sensiblement que le C.U.B. est activé.

Chez le Congre femelle mature, la calcitonine endogène, produite par le C.U.B. hyperactif, inhibe, pro-parte, la résorption ; chez les Anguilles femelles mûries expérimentalement, cette résorption augmente considérablement jusqu'à la ponte, entraînant une très forte hypercalcémie. L'activité, pourtant importante du C.U.B., ne parvient pas à juguler la déminéralisation.

B. ABLATION DES CORPUSCULES DE STANNIUS CHEZ L'ANGUILLE.

1. *Introduction.*

Les corpuscules de Stannius sont des glandes endocrines (BOBIN, 1949) originales des Téléostéens et des Holostéens ; ils jouent un rôle dans la régulation de l'équilibre hydrominéral chez les Téléostéens (RASQUIN, 1956 ; OLIVEREAU, 1961-63-64 ; FONTAINE et LOPEZ, 1965 ; LELOUP-HATEY, 1964 a et b). Ces glandes interviennent, en particulier, dans l'homéostasie calcique chez les Poissons (FONTAINE, 1964) : leur ablation chez l'Anguille maintenue en eau du robinet, entraîne une forte augmentation de la calcémie. FONTAINE, en 1967, a montré que cette hypercalcémie qui est sensible deux semaines après l'opération, maximale au bout d'un mois, régresse ensuite. Elle est, de plus, dépendante de la teneur en calcium du milieu extérieur. Si les animaux sont maintenus en eau déminéralisée, la teneur en calcium et phosphate sanguins ne varie pas, ce qui montre que les corpuscules de Stannius jouent un rôle dans les échanges de calcium avec le milieu extérieur. CHESTER-JONES et al. (1967) pensent que ces glandes agissent au niveau du rein et BUTLER (1969) émet l'hypothèse d'une déminéralisation du tissu osseux.

Nous avons voulu savoir si l'hypercalcémie entraînée par l'ablation des corpuscules de Stannius et dont le mécanisme est sans doute différent de celui mis en jeu au cours de la maturation sexuelle, provoquait aussi un changement d'activité du C.U.B.

2. *Protocole expérimental.*

Un lot de 7 Anguilles argentées mâles subissent l'ablation des corpuscules de Stannius (suivant le protocole mis au point par LELOUP-HATEY, 1964 b).

Source : MNHN, Paris

Un deuxième lot de 8 animaux sont opérés-témoins, c'est-à-dire qu'ils sont soumis au même protocole opératoire, mais les glandes sont laissées en place.

Tous les animaux sont maintenus en eau du robinet (concentration en Ca^{++} 80 mg/l environ). Le sang et le C.U.B. sont prélevés au sacrifice, cinq semaines après l'opération.

3. *Résultats.*

La calcémie moyenne des animaux privés de corpuscules de Stannius est de 273,3 ± 22,6 mg/l, alors que celle des Anguilles opérées témoins est de 119,4 ± 6,3 mg/l. Le C.U.B. des animaux opérés témoins présente la structure typique d'une glande au repos : épithélium bas formé de petites cellules à noyau basophile et d'un cytoplasme peu abondant. Chez les Anguilles stanniectomisées, la glande est stimulée : les cellules, hypertrophiées, contiennent de nombreuses granulations et ont un noyau volumineux et clair (fig. 39). Nous observons tous les critères d'activité déjà décrits.

4. *Conclusions et discussions.*

Ces résultats confirment le fait que le C.U.B. est stimulé par une hypercalcémie.

La surcharge en calcium sérique ne provient pas, dans ce cas, du tissu osseux. En effet, l'étude de l'os des Anguilles privées de corpuscules de Stannius a montré (LOPEZ, 1973) une importante réduction de la résorption ostéoclastique chez ces animaux, par rapport aux témoins, contrairement à ce que pensait BUTLER (1969). La suppression de ces glandes inhibant la résorption, on aurait pu penser que, lorsqu'elles sont présentes, elles la favorisent. Il n'en est rien puisque la réinjection d'extraits de corpuscules de Stannius à des animaux stanniectomisés ne provoque pas l'apparition, dans l'os, d'une résorption ostéoclastique.

Après ablation des corpuscules de Stannius, on peut donc supposer que l'arrêt de la résorption ostéoclastique est dû à l'effet de calcitonine endogène, sécrétée par le C.U.B. stimulé. De même, le retour à la normale de la calcémie de ces animaux, quelques semaines après l'opération, est probablement dû à l'action de la CT endogène.

À la lumière de résultats récents sur l'effet de la CT synthétique de Saumon au niveau du flux de calcium branchial (Chap. III) nous pouvons émettre l'hypothèse d'une action de cette hormone sur l'épithélium branchial, en réduisant l'entrée des ions calcium à ce niveau.

C. EFFET D'UN MÉTABOLITE DE LA VITAMINE D, LE 1-25 DIHYDROXYCHOLÉCALCIFÉROL SUR LE MÉTABOLISME CALCIQUE CHEZ L'ANGUILLE.

1. *Introduction.*

Le principe antirachitique contenu dans l'huile de foie de Poisson est le cholécalciférol ou vitamine D_3. La vitamine D, découverte au début du siècle (MELLAMBY, 1919 ; Mac COLLUM, 1921) est formée au niveau de la peau par action des rayons lumineux ultra-violet, sur le 7 déhydrocholestérol.

Depuis quelques années seulement, l'on sait que le cholécalciférol n'agit pas directement : il subit une première hydroxylation dans le foie pour donner le 25-hydroxycholécalciférol (25 OH D_3) (BLUNT et al., 1968), qui est lui-même hydroxylé une seconde fois au niveau du rein pour donner la forme la plus active de la vitamine : le 1-25 dihydroxycholécalciférol [1-25 $(OH)_2$ D_3] (FRASER and KODICEK, 1970).

Le foie des Poissons est très riche en vitamine D_3, et on l'utilise depuis presque 200 ans pour soigner le rachitisme. Pourtant, le rôle de la vitamine D_3 n'a pratiquement pas été étudié, dans ce groupe. Dernièrement, HENRY et NORMAN (1975) ont mis en évidence la 1-hydroxylase dans le rein de nombreuses espèces de Téléostéens, et HAY et WATSON (1976) ont montré l'existence d'une protéine plasmatique de transport du 25 OH D_3 chez les Poissons osseux.

De plus, il est maintenant certain (HILLYARD et al., résultats inédits) que le 25 OH D_3 existe sous forme circulante, chez l'Anguille. On peut donc penser que le 1-25 $(OH)_2$ D_3 existe aussi puisque le substrat et l'enzyme sont présents.

Source : MNHN, Paris

Nous avons voulu savoir si le métabolite actif de la vitamine D chez les Vertébrés supérieurs avait une action sur le métabolisme du calcium, chez les Poissons.

2. *Protocole expérimental* *.

Des Anguilles jaunes de poids compris entre 180 et 240 g sont réparties en quatre lots de 10 animaux.

a) Les Anguilles témoins reçoivent deux injections intrapéritonéales de solvant (éthanol) à 0 h. et 48 h.

b) Les Anguilles du second groupe reçoivent au total 12,5 nmol de 1-25 $(OH)_2$ D_3, en deux injections intrapéritonéales à 0 h. et 48 h.

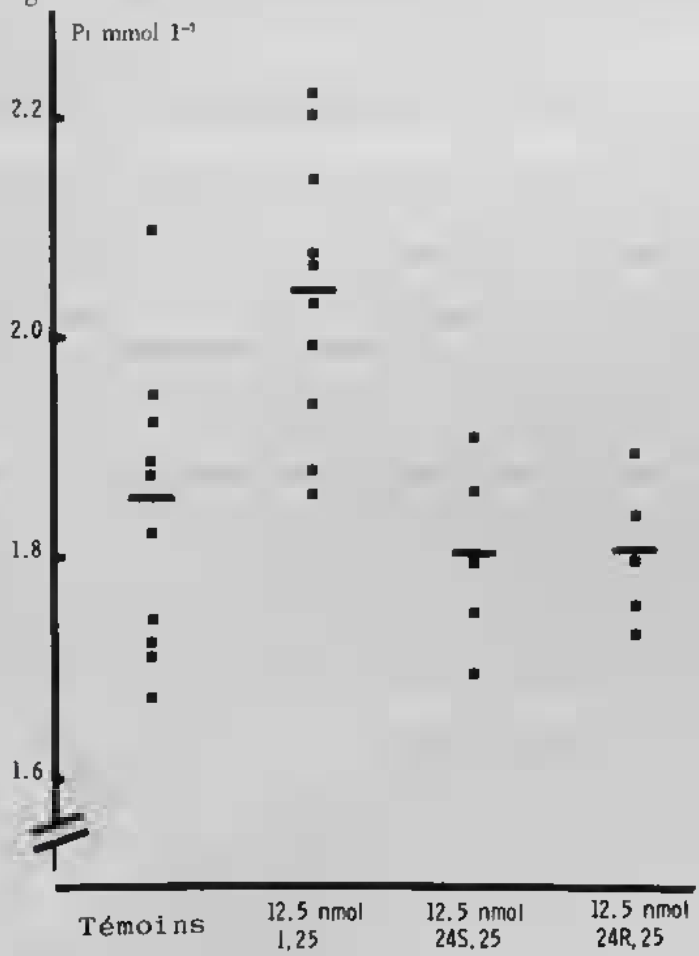
c) Les Anguilles du troisième groupe reçoivent au total 12,5 nmol de 24S-25 $(OH)_2$ D_3, en deux injections intrapéritonéales à 0 h. et 48 h.

d) Les Anguilles du quatrième groupe reçoivent au total 12,5 nmol de 24R-25 $(OH)_2$ D_3, en deux injections intrapéritonéales à 0 h. et 48 h.

Tous les animaux sont sacrifiés 72 h. après la première injection.

Le sang, le C.U.B., les corpuscules de Stannius et les échantillons d'os vertébral sont prélevés aussitôt.

TABLEAU n° 5. — Effet des métabolites de la Vitamine D_3 sur le taux de phosphate inorganique du plasma chez l'Anguille.



* Les 1-25, 24R-25 et 24S-25 dihydroxycholécalciférol ont été fournis par le Laboratoire HOFFMAN LA ROCHE Inc, Nutley, New-Jersey.

Source : MNHN, Paris

3. *Résultats.*

a) au niveau du sang.

Chez les Anguilles traitées au 1-25 $(OH)_2$ D_3, on constate une augmentation du taux plasmatique de phosphate inorganique (tableau n° 5), mais aucune modification du calcium sanguin (Mac INTYRE and al., 1976).

b) au niveau du C.U.B.

Le corps ultimobranchial des Anguilles traitées au 1-25 $(OH)_2$ D_3 montre une forte activité : hyperplasie glandulaire, réseau de capillaires sanguins important. Les cellules glandulaires, hypertrophiées, contiennent de gros noyaux clairs (fig. 40).

c) au niveau du tissu osseux.

Les Téléostéens ont un os cellulaire formé d'une trame organique calcifiée (appelée substance intercellulaire) et de types cellulaires qui sont les mêmes que ceux caractérisant l'os des Vertébrés supérieurs : les « cellules bordantes », les ostéoblastes, les ostéocytes et les ostéoclastes (LOPEZ, 1973). Les ostéoblastes, situés à la surface de l'os, synthétisent la trame organique et contribuent à sa calcification ; ils participent aussi à l'apposition ; les « cellules bordantes » sont des cellules indifférenciées, qui n'interviennent pas dans l'apposition.

Les ostéocytes, dérivant des ostéoblastes, sont dispersés dans tout le tissu osseux. Ils ont une double fonction : anabolisante et catabolisante. Cette dernière est appelée résorption ostéocytaire.

Les ostéoclastes, situés, comme les ostéoblastes, à la surface du tissu osseux, ont pour rôle de détruire l'os : c'est la résorption ostéoclastique. Un troisième mode de résorption existe chez les Téléostéens : la déminéralisation diffuse de la substance intercellulaire. Le remaniement osseux est le résultat, principalement, du jeu de l'apposition ostéoblastique et de la résorption ostéoclastique. C'est un remaniement de surface.

Contrairement à l'os des Mammifères, celui des Poissons Téléostéens n'est jamais organisé en systèmes de Havers.

Aux processus de remaniement que nous venons de décrire, s'ajoute le remodelage dû aux ostéocytes.

Le traitement au 1-25 $(OH)_2$ D_3 provoque, dans l'os vertébral de l'Anguille, un fort catabolisme. On y trouve les trois modes de déminéralisation rencontrés habituellement chez les Poissons : ostéoclasie, ostéolyse ostéocytaire et diminution du degré de minéralisation de la substance intercellulaire (LOPEZ et al., 1976) (tableau n° 6).

TABLEAU n° 6. — Effet de la 1-25 $(OH)_2$ D_3 sur le catabolisme osseux chez l'Anguille.

	Ostéoclasie %	Ostéolyse ostéocytaire %	Degré de minéralisation g/cm³
Témoins	10,60 ± 0,84* (10)	4,07 ± 0,23 (10)	1,40 ± 0,01 (10)
Traitées à la 1-25 $(OH)_2$ D_3	17,45 ± 0,60 (10)	5,12 ± 0,07 (10)	1,22 ± 0,01 (10)
Signification	H.S.	H.S.	H.S.

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.

Source : MNHN, Paris

4. *Conclusions.*

Ces résultats montrent que le métabolite actif de la vitamine D_3 chez les Mammifères, le 1-25 $(OH)_2$ D_3, est aussi très actif chez l'Anguille. Par contre le 24-25 $(OH)_2$ D_3 (autre métabolite rénal de la vitamine D_3) n'a aucun effet.

Chez les Mammifères, les données concernant l'action de la 1-25 $(OH)_2$ D_3 sur l'os sont contradictoires. Certains auteurs (RAISZ et al., 1972 ; REYNOLDS et al., 1973) montrent un effet positif « in vitro » de ce métabolite sur la résorption osseuse, alors que TEITELBAUM (1976) obtient, après traitement au 1-25 $(OH)_2$ D_3, des preuves histologiques d'amélioration de certaines maladies osseuses dues à une stimulation de l'activité ostéoblastique.

Chez les Poissons Téléostéens que nous avons étudiés, le 1-25 $(OH)_2$ D_3 provoque au niveau osseux une augmentation de la résorption et de la déminéralisation.

Pourtant, au niveau sanguin, seul le taux de phosphate inorganique est accru. Le manque d'effet du 1-25 $(OH)_2$ D_3 sur le taux de calcium sanguin est probablement dû à une excrétion de cet ion au niveau branchial ou rénal. L'activation du C.U.B. à la suite d'un traitement à la vitamine D a déjà été décrite chez les Batraciens (ROBERTSON, 1967-1968 a et b) et chez de nombreux Mammifères (FRANKEL and YASUMURA, 1971 ; KAMEDA, 1970 ; MELANDER et al. 1971 a et b). On sait aussi que la calcitonine exogène est capable de réduire ou de prévenir l'hypercalcémie induite par la vitamine D (CUDMUNSON et al., 1966 ; MILHAUD et JOB, 1966 ; MITTLEMAN et al., 1967). Chez les Poissons, le traitement à la vitamine D provoque une stimulation du C.U.B. et on peut penser que la calcitonine endogène prévient l'hypercalcémie, et ceci sans agir sur l'os puisque la résorption osseuse est importante.

CONCLUSIONS ET DISCUSSION

Les résultats exposés dans ce chapitre montrent que l'élévation de la calcémie, chez certains Poissons Téléostéens, entraîne une stimulation du C.U.B., de la même façon que les cellules C de la thyroïde de Mammifères répondent à une hypercalcémie (PEARSE, 1966 b).

L'hyperactivité du C.U.B. apparaît chez l'Anguille mâle au cours d'une élévation du taux de calcium sanguin induite par l'ablation des corpuscules de Stannius, ainsi que chez l'Anguille femelle et le Congre femelle, dans deux cas de maturation sexuelle (la première expérimentale, la seconde naturelle) provoquant des hypercalcémies.

PANG (1971) conteste le fait que, chez les Poissons, des fluctuations de la calcémie influencent l'activité du C.U.B. ; commentant nos résultats chez l'Anguille femelle mûre, cet auteur suppose que l'hyperactivité du C.U.B. est due à l'action des hormones hypophysaires contenues dans l'extrait d'hypophyse de Carpe injecté. Il n'en est rien car, d'une part des résultats similaires sont obtenus chez le Congre femelle naturellement mature, n'ayant subi aucun traitement et dont la calcémie est élevée par rapport à celle des Congres femelles non évolués sexuellement, et d'autre part, nous avons montré que chez l'Anguille femelle recevant des injections d'extraits hypophysaires, l'hyperactivité glandulaire n'apparaît qu'à la fin du traitement, au moment où le taux de calcium sanguin augmente.

L'ensemble de ces résultats indique que l'hypercalcémie, quelle qu'en soit l'origine, entraîne une stimulation du C.U.B. chez les Poissons Téléostéens.

Ces résultats sont d'ailleurs en accord avec ceux de DACKE et al. (1971) qui observent une augmentation du taux de calcitonine plasmatique chez les Poissons après injection de calcium, ainsi qu'avec ceux de WATTS et al. (1975) montrant que cette hormone est particulièrement abondante chez le Saumon femelle au moment de la reproduction lorsque la calcémie est élevée.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE III

EFFET DE CALCITONINES EXOGÈNES SUR LE MÉTABOLISME CALCIQUE CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

INTRODUCTION

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que l'activité du C.U.B. était en relation étroite avec les fluctuations de la calcémie, et que par conséquent, la calcitonine (CT) jouait très vraisemblablement un rôle dans la régulation du métabolisme calcique chez les Téléostéens étudiés. D'ailleurs, nous savons que cette hormone tend, chez les Poissons (LOPEZ, 1973) comme cela a été montré chez les Mammifères (MILHAUD et al., 1965), à freiner le catabolisme osseux.

L'action de la calcitonine exogène sur la régulation du métabolisme calcique est difficile à démontrer chez les Poissons car, comme nous le verrons, la calcémie, dans ce groupe, ne suffit pas à donner une image exacte de l'ensemble du métabolisme calcique. Les résultats des expériences menées par divers auteurs pour prouver l'effet de cette hormone dans ce groupe de Vertébrés inférieurs, sont très contradictoires car, en général, seule la calcémie a été étudiée. La CT n'a aucun effet chez les Elasmobranches (Poissons cartilagineux). Un extrait de C.U.B. de Requin (*Squalus acanthias*) n'affecte pas le taux de calcium sanguin de ce même animal (URIST, 1963). De même, la CT porcine ne provoque pas de changements des taux de calcium et de phosphate sanguins chez le Requin (LOUW et al., 1969). Enfin COPP et al. (1970) ne peuvent mettre en évidence l'action de la CT de Saumon sur la calcémie de l'Elasmobranche : *Squalus suckleyi*. Pourtant, ces Poissons ont un C.U.B. contenant de la CT (COPP et al., 1967) dont l'activité hypocalcémiante a été démontrée chez les Vertébrés supérieurs (URIST, 1967 ; COPP and PARKES, 1968).

Chez les Poissons osseux, des résultats positifs montrant l'action hypocalcémiante de la CT mammalienne sur le Poisson Chat (LOUW et al., 1967) et sur l'Anguille européenne (CHAN et al., 1968) ont été obtenus. Par contre, PANG and PICKFORD (1967) n'observent aucun effet de la CT sur *Fundulus heteroclitus*.

COPP (1969), se basant sur ces résultats, suggère que le manque de réponse chez Fundulus était peut-être dû au fait que cette espèce avait un os acellulaire.

Pourtant, des résultats différents peuvent être obtenus sur un même Téléostéen, selon les conditions de l'expérience.

PANG et CRIFFITH (dans PANG 1971) mettent en évidence une hypocalcémie et une hyperphosphatémie chez des Anguilles (*Anguilla rostrata*) maintenues en eau douce, traitées à la CT de Saumon. Le même traitement hormonal n'a pas d'effet chez les mêmes animaux adaptés à l'eau de mer.

De même, chez les Mammifères, la calcitonine n'a aucun effet chez des Rats soumis à un régime riche en calcium, alors qu'elle abaisse le taux de calcium sanguin chez des Rats rendus hypercalcémiques par un traitement à la vitamine D ou à la parathormone (cf. HIRSCH and MUNSON, 1969). La thyroxine (T_4) en augmentant le catabolisme osseux, potentialise l'action hypocalcémiante de la CT (MILHAUD et al., 1967 ; MOURA, 1970). Nous avons recherché l'action de deux calcitonines (CT de Porc

Source : MNHN, Paris

et CT synthétique de Saumon) sur des Poissons Téléostéens dont le métabolisme calcique est préalablement perturbé, ainsi que sur des Téléostéens pris dans leurs conditions physiologiques normales.

L'effet de cette hormone a été étudié sur différents paramètres du métabolisme calcique : calcémie, activité du C.U.B., remaniement osseux et aussi sur les échanges de calcium au niveau des branchies.

I — EFFET DE CALCITONINES EXOGÈNES SUR LA CALCÉMIE, L'ACTIVITÉ DU C.U.B. ET DU TISSU OSSEUX, CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

A. Action de la CT porcine sur des Truites.

1. *Introduction.*

Chez la Truite, la perturbation du métabolisme calcique (déminéralisation osseuse et diminution de la calcémie) provoquée par un séjour prolongé en eau privée de calcium est très accentuée par l'adjonction de thyroxine (T_4) à ce milieu (Chartier-Baraduc, résultats inédits).

Nous avons comparé l'action de la CT porcine chez des animaux maintenus soit dans les conditions qui viennent d'être décrites, soit dans les conditions normales.

2. *Protocole expérimental.*

Des Truites arc-en-ciel de poids compris entre 20 et 30 g, sont réparties en deux groupes. Les animaux du premier groupe sont maintenus en eau du robinet (t : 12 à 13°C), non courante (Ca= 80 mg/l). Ce groupe est divisé en deux lots : les animaux du lot A reçoivent tous les deux jours une injection intrapéritonéale de solvant (acétate de sodium : 0,1 ml à pH 4,6), et les animaux du lot B, une injection intrapéritonéale de CT porcine * à la dose de 50 mU MRC ** dans 0,1 ml du solvant précité.

Les Truites du second groupe sont maintenues en eau privée de calcium (t : 12 à 13°C) et additionnée de T_4 à la concentration de 2 mg/l. Ce groupe est divisé en deux lots C et D, ces animaux subissent respectivement les mêmes traitements que ceux des groupes A et B. Ce traitement s'étend sur trois semaines. Le sang, le C.U.B. et les échantillons d'os vertébral sont prélevés au sacrifice.

3. *Résultats.*

Une chute de la calcémie est observée chez les Truites maintenues en eau sans calcium, additionnée de T_4. Le traitement à la CT, par contre, n'a aucun effet sur le taux de calcium sanguin, que les Truites se trouvent en eau du robinet ou en eau sans Ca + T_4.

L'étude du tissu osseux montre des changements importants : le traitement « eau privée de Ca + T_4 » provoque une nette déminéralisation (tableau n° 7).

L'effet de la CT au niveau osseux est lui-même net puisque le degré de minéralisation de l'os des Truites, abaissé par le traitement déminéralisant, retrouve après action de la CT, la valeur qu'il avait chez les Truites maintenues en eau du robinet (lot D). Chez les animaux maintenus en eau du robinet, la CT n'a aucun effet au niveau du tissu osseux.

L'étude du C.U.B. nous montre un organe au repos, aussi bien chez les Truites traitées à la T_4 en eau sans calcium que chez celles ayant reçu des injections de CT.

* Nous remercions M. le Professeur Milhaud qui a bien voulu nous fournir la CT porcine.

** MRC. L'activité biologique de la CT est exprimée en unités définies par le « Medical Research Council » (MRC). 1 mg de CT porcine pure contient approximativement 200 unités MRC.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU n° 7. — Effet de la CT porcine sur le degré de minéralisation de l'os après un traitement déminéralisant chez la Truite.

	Degré de minéralisation g/cm³		
	Solvant	CT	Signification
Truites en eau du robinet	(A) 1,372 ± 0,019* (5)	(B) 1,356±0,350 (5)	A ⟷ B N.S
Truites en eau sans Ca + T_4	(C) 1,084 ± 0,038 (5)	(D) 1,398±0,023 (5)	C ⟷ D H.S
Signification	A ⟷ C H.S	A ⟷ D N.S	

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.

4. *Discussion et Conclusions.*

Une grave perturbation du métabolisme calcique est provoquée chez la Truite par le séjour en eau privée de calcium ; cette déminéralisation est nettement plus importante si on ajoute de la T_4 (CHARTIER-BARADUC, résultats inédits). Nous montrons ici qu'il y a dans ces conditions à la fois baisse importante du taux de calcium dans le sang et fuite du calcium du squelette. Ceci peut s'expliquer par le fait que tout apport calcique exogène notable étant supprimé, le squelette semble être, à ce moment, l'un des principaux pourvoyeurs de calcium. La thyroïde semble jouer un rôle non négligeable ; il a été montré que la triiodothyronine (T_3) et la thyroxine (T_4) entraînaient, chez la Truite, une chute de la calcémie et du calcium musculaire (CHARTIER-BARADUC, 1968) et que la TSH (PANG, 1969) provoquait une hypocalcémie chez Fundulus heteroclitus. En dépit des résultats négatifs obtenus sur la calcémie, chez la Truite, la CT agit très nettement au niveau osseux, elle empêche une forte déminéralisation. Ce résultat est à rapprocher de certaines observations faites chez les Mammifères, chez lesquels un traitement de longue durée à la CT, sur des animaux soumis à un régime pauvre en calcium, peut prévenir une atrophie osseuse chez le Rat et le Chat (FUJITA et al., 1968) ou bien chez le Chien provoquer une fixation accrue de ^{45}Ca dans l'os (CANCEDDA et ANCIOI, 1969). Chez les animaux soumis à un traitement déminéralisant, qu'ils soient ou non injectés de CT, le C.U.B. apparaît comme une glande au repos ; ce résultat est sans doute lié au fait que la calcémie est alors peu élevée et souligne l'importance de l'hypercalcémie dans la stimulation.

B. ACTION DE LA CT SYNTHÉTIQUE DE SAUMON SUR DES ANGUILLES MAINTENUES EN EAU DE MER.

1. *Introduction.*

L'activité hypocalcémiante des calcitonines ultimobranchiales (en particulier celles de Poissons) a été démontrée chez les Vertébrés supérieurs (URIST, 1967 ; COPP et PARKES, 1968).

O'DOR et al. (1969) ont montré que la CT de Saumon du Pacifique est 25 à 50 fois plus active,

Source : MNHN, Paris

chez le Rat, que la CT mammalienne. Une des CT de Saumon a été synthétisée ; ses propriétés sont similaires à celles de l'hormone naturelle (CUTTMANN et al., 1970) et c'est ce produit que nous avons utilisé ici.

2. *Protocole expérimental.*

Des Anguilles femelles argentées, de poids compris entre 400 et 600 g, sont progressivement adaptées à l'eau de mer et y sont maintenues pendant toute la durée de l'expérience.

5 animaux reçoivent des injections intrapéritonéales de CT synthétique de Saumon *, trois fois par semaine pendant 7 semaines (à raison de 3 mU MRC par g de poids, d'hormone dissoute dans un solvant de composition suivante : gélatine à 2 ‰ dans du sérum physiologique à 8 ‰).

En vue de suivre les variations de la calcémie, le sang est prélevé par ponction cardiaque avant le traitement à la CT, puis trois semaines et huit semaines après le début des injections. Au cours de la 10e semaine, les Anguilles sont sacrifiées. Le sang, le C.U.B. et des fragments d'os vertébral sont prélevés aussitôt.

6 animaux reçoivent des injections intrapéritonéales de solvant trois fois par semaine pendant 7 semaines. Sacrifiés dans les mêmes temps, ils serviront de témoins pour l'étude du C.U.B. et de l'os.

3. *Résultats.*

a) au niveau du sang.

Les injections de CT provoquent au bout de trois semaines une légère, mais significative, baisse du taux de calcium sanguin (tableau n° 8).

Dès la fin du traitement, la calcémie remonte, puis revient à un taux comparable à celui du début de l'expérience (PEIGNOUX-DEVILLE et al., 1975).

TABLEAU n° 8. — Action de la CT synthétique de Saumon sur la calcémie (mg/l) de l'Anguille maintenue en eau de mer.

Temps	0	3e semaine	8e sem.	10e sem.
Traitement		CT **		
Anguilles ♀ ♀ argentées	94,4 ± 1,3 (5)*	85,6 ± 3,0	91,2 ± 6,0	114,0 ± 4,2
Signification		S		

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.
** CT : calcitonine.

b) au niveau du C.U.B.

On rencontre dans l'épithélium du C.U.B. des Anguilles du groupe témoin, maintenues en eau de mer, deux stades cellulaires : des cellules sécrétrices, contenant un noyau basophile et des cellules en dégénérescence bordant le pôle apical de l'épithélium (fig. 41). Les cellules sécrétrices n'ont ni

* La CT synthétique de Saumon nous a été aimablement fournie par les Laboratoires SANDOZ.

Source : MNHN, Paris

l'aspect, ni la taille des cellules similaires en phase de déplétion rencontrées dans le C.U.B. supposé actif des Anguilles hypercalcémiques. On peut penser qu'elles sont en phase d'élaboration ou de stockage.

Chez les animaux qui ont subi un traitement de longue durée à la CT et qui ont été sacrifiés quand la calcémie était redevenue normale, le C.U.B. montre une nette atrophie : l'épithélium est réduit à une seule couche de cellules sécrétrices (fig. 42) dont le cytoplasme est réduit. Le réseau de capillaires sanguins est inexistant. La glande semble complètement inactivée (PEIGNOUX-DEVILLE et al., 1975).

c) au niveau osseux.

Dans cette expérience, le traitement à la CT n'a pas affecté la résorption (ni ostéoclastique, ni ostéolytique). Par contre, la CT accroît, dans de nettes proportions, le degré de minéralisation de l'os, ainsi que l'apposition ostéoblastique (tableau n° 9) (LOPEZ et al., 1976 a).

TABLEAU n° 9. — Action de la CT sur le métabolisme osseux chez l'Anguille ♀ argentée maintenue en eau de mer.

	Ostéoclasie %	Ostéolyse ostéocytaire %	Degré de minéralisation g/cm³	Apposition ostéo-blastique %
Anguilles témoins	13,78* ± 0,50 (6)	4,53 ± 0,19 (6)	1,17 ± 0,05 (6)	4,20 ± 0,14 (6)
Anguilles ♀ argentées traitées à la CT pendant 7 semaines	12,02 ± 0,77 (5)	4,30 ± 0,16 (5)	1,46 ± 0,02 (5)	13,14 ± 0,22 (5)
Signification	N.S	N.S	H.S	H.S

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.

4. *Conclusions.*

Nos résultats montrent une action très nette de la CT synthétique de Saumon au niveau des divers paramètres du métabolisme calcique étudiés : il y a une baisse de la calcémie et une importante stimulation de l'anabolisme osseux (apposition ostéoblastique — minéralisation de la substance intercellulaire). De plus, nous observons une atrophie du C.U.B.

Certaines de ces observations contredisent celles de PANG (1971) qui ne constate aucune variation de la calcémie chez *Anguilla rostrata* adaptée à l'eau de mer et traitée à la CT synthétique de Saumon.

La différence entre les résultats obtenus, dans ces deux cas, est peut-être due au fait que les animaux ne sont pas au départ dans le même état physiologique. Il est à noter aussi que PANG ne considère que la calcémie comme critère d'action de la CT. Or, nous avons constaté aussi que, dans certains cas, la CT n'a aucune action sur le taux de calcium sanguin, par exemple chez la Truite (Chap. III, I, A), mais un effet sur l'os.

Source : MNHN, Paris

L'atrophie spectaculaire du C.U.B. que nous observons chez les Anguilles traitées à la CT, bien que les animaux aient été sacrifiés deux semaines après la fin du traitement à la CT, et que leur calcémie pourtant remonte, peut s'expliquer par un phénomène de « feed-back ».

C. Action de la CT synthétique de Saumon sur des Anguilles dont l'évolution sexuelle est provoquée par des injections d'extraits hypophysaires de Carpe.

1. *Introduction.*

Nous avons montré (Chap. II, II, A) que chez l'Anguille, l'évolution sexuelle provoquée par des injections d'extraits hypophysaires de Carpe induisait une élévation de la calcémie, une stimulation du C.U.B. et un fort catabolisme osseux.

Ceci laissait présager une sensibilité accrue à la CT si l'on se réfère à nos résultats préliminaires obtenus chez la Truite et aux observations faites chez les Mammifères (cf. Hirsch et Munson, 1969).

Tableau n° 10. – Action de la CT synthétique de Saumon sur la calcémie (mg/l) d'Anguilles évoluées sexuellement. (CT administrée en même temps que l'extrait hypophysaire de Carpe).

Temps	- 2 mois	0	1 mois	2 mois (ponte)
Traitements			E.H.C.**	
Anguilles ♀ argentées témoins	128,0 ± 2,8*	(4)		129,5 ± 3,0
Anguilles ♀ argentées	161,2 ± 7,2	(4)	215,0 ± 51,9	546,0 ± 99,2
Traitements			E.H.C. / C.T.***	
Anguilles ♀ argentées	120,0 ± 11,3	(4)	191,7 ± 14,3	516,2 ± 16,9

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.
** E.H.C. = extrait hypophysaire de Carpe.
*** CT = calcitonine.

2. *Traitement à la CT synthétique de Saumon pendant l'évolution ovarienne.*

a) Protocole expérimental.

4 Anguilles femelles argentées sont maintenues en eau de mer et reçoivent des injections de solvant pendant toute la durée de l'expérience.

Source : MNHN, Paris

8 Anguilles femelles argentées de poids compris entre 400 et 600 g sont maintenues en eau de mer et traitées de façon à provoquer l'évolution sexuelle : elles reçoivent deux injections intrapéritonéales par semaine d'extrait hypophysaire de Carpe (1 mg/100 g de poids). Au bout de deux mois de ce traitement, elles sont divisées en deux groupes :

– le premier groupe (4 animaux) continue à subir le traitement provoquant l'évolution sexuelle (extrait hypophysaire de Carpe). Il sert de témoin;

– le second groupe (4 animaux) en plus du traitement aux extraits hypophysaires de Carpe, reçoit des injections journalières intrapéritonéales de CT synthétique de Saumon, à raison de 3 mU MRC/g de poids d'hormone dissoute dans du solvant (43 injections). Le sang est prélevé par ponctions cardiaques en début d'expérience, et au bout de trois mois de traitement. Au moment de la ponte, c'est-à-dire en moyenne 4 mois après le début des injections d'hypophyse de Carpe, les animaux sont sacrifiés et le sang, le C.U.B. et les échantillons osseux sont prélevés. Le rapport gonosomatique (RGS) est calculé :

Anguilles argentées : $1 < RGS < 2$
Anguilles matures : $25 < RGS < 50$

TABLEAU n° 11. — Action de la CT synthétique de Saumon sur le métabolisme osseux chez l'Anguille évoluée sexuellement.

	Ostéoclasie %	Ostéolyse %	Degré de minéralisation g/cm3
Anguilles ♀ argentées (1)	13,45 ± 0,66 * (4)	4,80 ± 0,38 (4)	1,25 ± 0,03 (4)
Anguilles ♀ argentées traitées à l'hypophyse de Carpe (2)	46,52 ± 5,19 (4)	42,02 ± 0,76 (4)	0,98 ± 0,02 (4)
Anguilles ♀ argentées traitées à l'hypophyse de Carpe et à la CT (3)	27,87 ± 2,38 (4)	13,17 ± 1,15 (4)	1,18 ± 0,02 (4)
Signification	1 ↔ 2, 1 ↔ 3, 2 ↔ 3 : H.S	1 ↔ 2, 1 ↔ 3, 2 ↔ 3 : H.S	1 ↔ 2, 2 ↔ 3 : H.S ; 1 ↔ 3 : N.S

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne; ( ) nombre d'animaux.

Source : MNHN, Paris

b) Résultats.

L'hypercalcémie constatée lors du traitement des Anguilles femelles aux extraits hypophysaires de Carpe n'est pas modifiée par les injections de CT synthétique de Saumon (tableau n° 10).

D'ailleurs l'hyperactivité du C.U.B., constatée après le traitement provoquant la maturation sexuelle, persiste chez les Anguilles qui reçoivent de la CT, en même temps que les extraits hypophysaires de Carpe. L'épithélium de la glande est hyperplasique, formé de cellules hypertrophiées et dégranulées (fig. 43).

Nous avons vu (Chap. II, II, A) que l'os vertébral des Anguilles femelles matures présente, par rapport à celui des Anguilles immatures, une stimulation considérable de la résorption ostéoclastique (tableau n° 11). Chez les animaux recevant en même temps les traitements à l'hypophyse de Carpe et à la CT, les surfaces en résorption, bien que nettement réduites par rapport à celles de l'os des Anguilles traitées à l'hypophyse de Carpe, sont encore plus importantes que chez les témoins. Il en est de même dans le cas du pourcentage d'ostéolyse ostéocytaire (tableau n° 11) (LOPEZ et DEVILLE, 1973).

Par contre, la diminution du degré de minéralisation constatée après le traitement à l'hypophyse de Carpe n'est plus observée après administration de CT.

TABLEAU n° 12. — Traitement préventif à la calcitonine. Absence d'effet sur la calcémie au cours du développement sexuel provoqué.

Temps	0	3e sem.	8e sem.	9e sem.	Ponte
Traitements			E.H.C.**		
Anguilles ♀ argentées	117,5 ± 2,8* (7)		109,1 ± 1,6	148,8 ± 8,2	575,4 ± 155,1
Traitements	CT ***		E.H.C.		
Anguilles ♀ argentées	111,6 ± 1,6 (4)	96,6 ± 2,6		142,7 ± 5,0	723,5 ± 221,2

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.
** E.H.C. : extrait hypophysaire de Carpe.
*** CT : calcitonine.

3. *Traitement préventif à la CT synthétique de Saumon avant l'évolution sexuelle provoquée par des extraits hypophysaires de Carpe.*

a) Protocole expérimental.

Des Anguilles femelles argentées de poids compris entre 400 et 600 g sont adaptées à l'eau de mer où elles sont maintenues pendant toute la durée de l'expérience.

— Un premier groupe (7 animaux) est traité selon le protocole déjà décrit (Chap. II, II, A) afin de provoquer l'évolution sexuelle jusqu'à la ponte.

— Un second groupe (4 animaux) reçoit des injections intrapéritonéales de CT synthétique de Saumon trois fois par semaine pendant 7 semaines (3 mU MRC/g de poids). Ensuite ces animaux

Source : MNHN, Paris

subissent le traitement à l'hypophyse de Carpe (même protocole que le groupe 1), jusqu'à la ponte.

Des ponctions cardiaques sont pratiquées au début et en cours d'expérience, en vue de déterminer la calcémie. Tous les animaux sont sacrifiés au moment de la ponte.

b) Résultats.

Le traitement préalable à la calcitonine synthétique de Saumon ne prévient pas l'hypercalcémie induite par les injections d'extraits hypophysaires de Carpe (tableau n° 12). Le C.U.B. est d'ailleurs très stimulé (fig. 44). Pourtant, au niveau du tissu osseux, la CT, dans cette expérience, a un effet très net : elle inhibe la résorption ostéoclastique et ostéolytique ostéocytaire induite par le traitement à l'hypophyse de Carpe (tableau n° 13). Toutefois, on ne retrouve pas les valeurs observées chez les Anguilles témoins argentées non évoluées sexuellement (tableau n° 11). Le traitement préalable à la CT, dans ces conditions, prévient totalement la déminéralisation de la substance intercellulaire (tableaux n° 13 et 11).

TABLEAU n° 13. – Action préventive de la CT sur le métabolisme osseux d'Anguilles évoluées sexuellement.

	Ostéoclasie %	Ostéolyse %	Degré de minéralisation g/cm³
Anguilles ♀ à RGS ** moyen de 35	47,40 (7) ± 1,17*	40,01 (7) ± 0,32	0,98 (7) ± 0,01
Anguilles ♀ à RGS moyen de 35 traitées préventivement à la CT	23,12 (4) ± 0,98	4,95 (4) ± 0,17	1,31 (4) ± 0,03
Signification	H.S	H.S	H.S

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.
** RGS = rapport gonosomatique.

4. *Conclusions et discussion.*

Dans ce chapitre, les résultats apportés par les traitements à la CT synthétique de Saumon à différents stades de l'évolution sexuelle provoquée par injections d'extraits hypophysaires de Carpe chez l'Anguille, confirment et précisent l'action de l'hormone ultimobranchiale, chez les Poissons.

Lorsque la CT est administrée avant ou en même temps que l'extrait hypophysaire de Carpe, elle est impuissante à juguler l'hypercalcémie, bien qu'elle réduise en partie le catabolisme osseux (résorption ostéoclastique et ostéolyse ostéocytaire), qui reste cependant suffisant pour expliquer un taux de calcium sanguin élevé. La stimulation de la résorption, chez l'Anguille femelle évoluée sexuellement, est supposée être en grande partie d'origine œstrogénique (LOPEZ, 1973). On peut penser que

Source : MNHN, Paris

l'action de la CT, ainsi que cela a été montré chez les Mammifères (SORENSEN and HINDBERG, 1971; CURIE and BLACK, 1972) est inhibée par l'effet des œstrogènes. Que la CT soit injectée préalablement ou bien pendant le traitement à l'hypophyse de Carpe, elle empêche la déminéralisation diffuse de la substance intercellulaire. De plus, injectée à des Anguilles femelles argentées, elle augmente notablement le degré de minéralisation ainsi que l'apposition ostéoblastique; des observations similaires de l'effet de la CT sur la minéralisation osseuse ont été faites chez les Oiseaux (COPP et al., cf. BELANGER, 1971) et chez l'homme (BAUD et al., 1970).

II – ACTION DE LA CT SUR LE TRANSPORT DE CALCIUM AU NIVEAU DES BRANCHIES

1. *Introduction.*

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons mis en évidence le fait que la calcitonine, qu'elle soit d'origine mammalienne ou pisciaire, jouait un rôle important dans la régulation du métabolisme calcique, chez l'Anguille et la Truite, et que dans certains cas cette hormone était hypocalcémiante. Le squelette des Poissons participe au contrôle de l'homéostasie calcique (LOPEZ, 1973) mais pour l'ensemble de l'interprétation de la régulation du métabolisme phosphocalcique dans ce groupe, nous devons tenir compte d'échanges importants se faisant au niveau des branchies, organes intervenant de façon primordiale dans la régulation osmotique et ionique. FONTAINE et al. (1972) ont montré que l'ablation des corpuscules de Stannius entraînait des modifications du flux net de calcium au niveau des branchies. Nous avons cherché à savoir si les branchies n'étaient pas aussi des organes cibles pour la CT.

2. *Mesure des flux de calcium sur des branchies isolées d'Anguille* *.

a) Protocole expérimental.

L'expérience a été pratiquée sur des Anguilles argentées femelles immatures d'un poids moyen de 450 g.

Les mesures de flux de calcium ont été réalisées sur une préparation d'arc branchial isolé et perfusé, technique mise au point récemment par MILET et MARTELLY (en préparation). Cette méthode consiste à perfuser avec du liquide de Ringer (composition du Ringer, voir Matériel et Méthodes) une branchie isolée.

Sur une première préparation, pour la mesure du flux d'entrée (fe), un indicateur radioactif ^{45}Ca est introduit dans le compartiment externe dans lequel baigne la branchie et est recueilli à la sortie de la branchie; la mesure du ^{45}Ca dans le perfusat permet de calculer le fe de calcium au niveau branchial. Sur une autre préparation, l'indicateur radioactif ^{45}Ca est ajouté au liquide de perfusion et recueilli dans le compartiment externe où sa mesure permet de calculer le flux sortant (fs) de calcium. L'expérience est réalisée dans de l'eau, bullée par un mélange 95% O_2; 5% CO_2, à température constante (12° C) et dont la concentration en calcium est d'environ 80 mg/l.

Une étude approfondie de la vascularisation branchiale a permis de réaliser la préparation utilisée lors de cette expérience. Le débit de perfusion a été calculé après mesure du débit sanguin d'un arc branchial, in situ. Six arcs d'un même animal sont prélevés : trois pour la mesure du flux d'entrée, les trois autres pour celle du flux de sortie.

Les mesures ont été faites sur 18 arcs branchiaux (9 fe et 9 fs).

Les flux de base sont déterminés pendant les 35 premières minutes de perfusion. La calcitonine (calcitonine synthétique de Saumon) à raison de 20 ng par ml de Ringer est ensuite perfusée pendant le reste de l'expérience, soit 1 h. (fig. 45). Cette concentration a été choisie d'après le taux circulant de cette hormone chez le Saumon (WATTS et al., 1975). En fait, d'après une publication récente, le

* Travail effectué en collaboration avec C. MILET et E. MARTELLY-BAGOT.

Source : MNHN, Paris

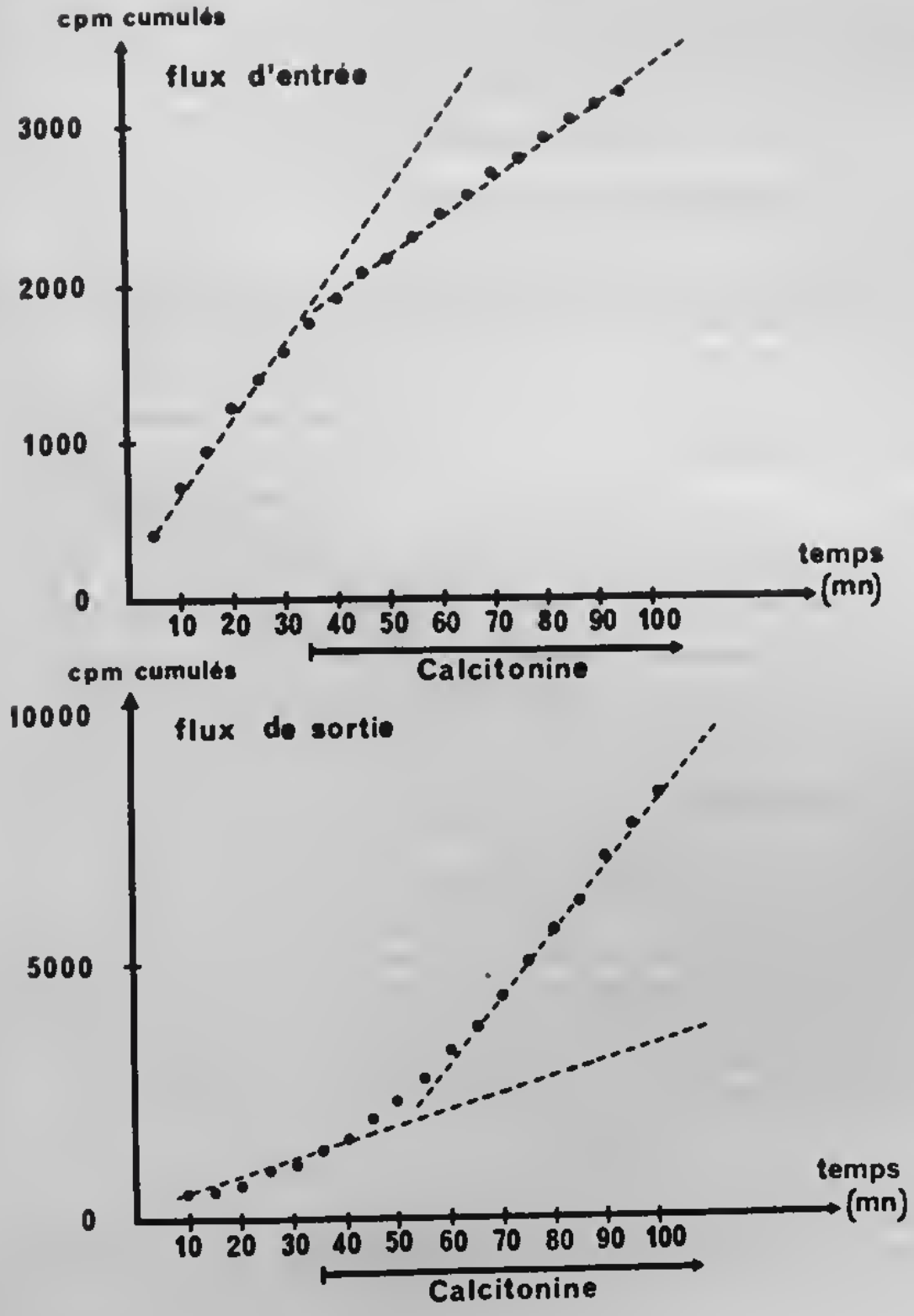


FIG. 45. — Effet de la perfusion de calcitonine sur les flux de Ca dans les arcs branchiaux d'Anguille.

Source : MNHN, Paris

taux de CT circulante chez l'Anguille est plus faible (1,5 ng/ml) (ORIMO et al., 1976). La figure 45 donne un exemple des courbes types obtenues au cours d'une expérience. Les flux de calcium exprimés en µEq/h/kg d'animal sont calculés à partir de la pente de la droite expérimentale représentant l'accroissement de la radioactivité mesurée en fonction du temps (fig. 45). Cette quantité de radioactivité est convertie en quantité équivalente de Ca stable en utilisant les formules suivantes :

$$\text{Flux d'entrée } \mu\text{Eq/h/kg} = \frac{\text{c.p.m/min.} \times 60 \times 10^6}{\text{RAS milieu} \times \text{poids corp.} \times 20}$$

$$\text{Flux de sortie } \mu\text{Eq/h/kg} = \frac{\text{c.p.m/min.} \times 60 \times 10^6}{\text{RAS Ringer} \times \text{poids corp.} \times 20}$$

b) Résultats.

La CT provoque une diminution faible, mais significative du flux d'entrée de calcium à travers la branchie et une augmentation importante du flux de sortie (tableau n° 14).

TABLEAU n° 14. — Action de la CT sur les flux branchiaux de calcium de l'Anguille ♀ argentée.

	Flux d'entrée µEq/h/kg	Flux de sortie µEq/h/kg
Flux basal	0,0168 ± 0,0016*(8)	13,86 ± 3,39 (9)
Flux modifié CT	0,0101 ± 0,0014 (8)	20,40 ± 3,70 (9)
Signification**	H.S	H.S

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.
** Test employé = test t par paires de variables (OSTLE, 1963).

Notons que les valeurs des flux branchiaux de calcium obtenues par la méthode des branchies isolées (tableau n° 14) sont approximativement 10 fois inférieures à celles calculées par la méthode précédemment employée, de perfusion sur tête isolée d'Anguille (Anguilla anguilla L.) (MILET et al., 1975). De même, SHUTTLEWORTH (1972) note que la méthode des branchies isolées appliquée à l'étude des flux de sodium et de chlorure chez *Anguilla diffenbachii*, donne des résultats quantitatifs 6 à 10 fois inférieurs à ceux obtenus par MAETZ (1971) chez *Anguilla anguilla* sur l'animal entier.

CONCLUSIONS ET DISCUSSION

Chez les Mammifères, l'injection de CT est suivie d'une rapide chute de calcium plasmatique, ainsi que du phosphore (HIRSCH et al., 1964). MILHAUD et al. (1965) furent les premiers, grâce à des données cinétiques, à montrer l'action inhibitrice de la calcitonine sur la résorption osseuse. Ces résultats furent confirmés par FRIEDMAN and RAISZ (1965) et GAILLARD (1966) travaillant sur des cultures de tissus, ainsi que par FOSTER et al. (1966) qui constatèrent des différences dans le nombre des ostéoclastes du tissu osseux. Chez les Vertébrés inférieurs, l'effet hypocalcémiant de la calcitonine étant

Source : MNHN, Paris

difficile à mettre en évidence, de nombreux auteurs ont suggéré que cette hormone avait sans doute des fonctions différentes de celles observées chez les Mammifères.

On sait maintenant que chez les Poissons Téléostéens, elle agit sur l'os : en inhibant la résorption lorsque le catabolisme osseux est très augmenté (LOPEZ et DEVILLE, 1973 ; LOPEZ, 1973) et en accroissant la minéralisation (LOPEZ et al., 1976 a). L'action de la calcitonine au niveau osseux est aussi connue chez les Amphibiens (ROBERTSON, 1970) et chez les Oiseaux (BELANGER, 1969). Signalons que l'une des différences existant entre l'os des Mammifères et celui des Poissons est la non organisation en système de Havers.

Chez les Mammifères, la dynamique du remodelage osseux de surface peut être expliquée par le système du B.M.U. (Basic Multicellular Unit) conçu par FROST (1973). Pensant que la résorption et l'apposition étaient deux phénomènes intimement liés, dans le temps et dans l'espace, cet auteur a défini une unité morphologique et fonctionnelle du tissu osseux : le B.M.U. À un instant donné se produit une activation (endocrinienne ou mécanique) qui provoque une résorption ostéoclastique qui sera suivie d'une apposition ostéoblastique. L'activité de chaque B.M.U. se traduit en terme de quantités d'os résorbé et d'os formé. Le bilan tissulaire osseux diffère selon l' « enveloppe » squelettique où il se trouve. FROST distingue trois « enveloppes » : l'enveloppe sous périostée, l'enveloppe Haversienne qui représente la paroi des canaux de Havers et l'enveloppe endostéale.

Si l'on applique ce système aux Poissons, l'enveloppe Haversienne n'existant pas et l'enveloppe endostéale étant très réduite, le remodelage osseux ne se fait pratiquement qu'au niveau de l'enveloppe périostique, c'est-à-dire à la surface de l'os.

De plus, le remodelage qui se fait au niveau de la lacune ostéocytaire est vraisemblablement moins important chez les Poissons, étant donné que chez ceux-ci le tissu osseux est moins riche en ostéocytes : chez une Anguille adulte, on dénombre 380 ostéocytes/mm² (LOPEZ, 1973) alors que chez l'Homme, chez qui le nombre d'ostéocytes par unité de surface décroît avec l'âge, on trouve 750 ostéocytes/mm² (homme de 43 ans KNESE et KNOPP, 1961) et 555 ostéocytes/mm² (homme de 60 ans BOIVIN et BAUD, communication personnelle). Ces deux constatations nous confirment dans le fait que, chez les Poissons, le remaniement osseux résultant des phénomènes de résorption et d'apposition est moins important que chez les Mammifères, en raison du fait que les surfaces sont réduites. Par contre, les processus de minéralisation et déminéralisation diffuses de la substance intercellulaire sont très importants dans ce groupe, ainsi que cela a été confirmé par FENWICK (1974).

L'effet de la CT sur le rein, chez l'homme, est controversé ; une diminution de l'excrétion urinaire a été signalée (MILHAUD and JOB, 1966) tandis que, chez certains patients, BARTTER et al. (1969) observent une augmentation de la calciurie.

Chez les Amphibiens, ROBERTSON (1969) suggère que la CT a pour rôle d'inhiber la sortie de calcium du rein et CHAN (1972) arrive aux mêmes conclusions en ce qui concerne les Poissons. Chez ces derniers, le rein a été très peu étudié en tant qu'organe cible de la calcitonine ; de même, l'action de cette hormone sur le transport de calcium intestinal n'est pas connue.

D'après les résultats que nous venons d'exposer, il apparaît que le transport de calcium à travers l'épithélium branchial des Poissons Téléostéens, dont le rôle dans la régulation ionique est très important, est régulé par la calcitonine. En eau douce, la branchie assure l'absorption d'électrolytes (essentiellement le sodium et le chlore) grâce à un processus de transport actif. En eau de mer, il y a excrétion active des électrolytes par les branchies (MAETZ et al., 1964). La fonction branchiale, au sein du métabolisme du calcium, a été peu étudiée. Il semble que chez l'Anguille en eau du robinet, la branchie excrète du calcium, puisque le flux net de cet ion est négatif (MILET et al., 1975). Après ablation des corpuscules de Stannius, le flux net devient nul ou positif.

Les résultats obtenus, montrant que les branchies sont un organe cible pour la calcitonine, apportent une preuve supplémentaire de l'importance de celles-ci dans la régulation ionique. En réduisant le flux d'entrée de calcium et en augmentant le flux de sortie de cet ion, la calcitonine agit en tendant à abaisser le taux de calcium sanguin.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE IV

EFFET DE L'ABLATION DU CORPS ULTIMOBRANCHIAL SUR LE MÉTABOLISME CALCIQUE DE L'ANGUILLE

INTRODUCTION

Nous avons vu, dans le chapitre précédent, que la CT exogène n'agit pas toujours sur chacun des paramètres témoignant de l'homéostasie calcique.

Alors que chez les Mammifères, la suppression des cellules sécrétrices de CT est impossible puisqu'elles sont disséminées dans la thyroïde, chez les Poissons, ainsi que chez les Amphibiens, les Reptiles et certains Oiseaux d'ailleurs, l'individualisation du C.U.B. rend cette ablation possible. On dispose donc chez ces derniers animaux d'un moyen supplémentaire de préciser le rôle physiologique du C.U.B. et de la calcitonine.

L'effet de l'ablation du corps ultimobranchial a été étudié chez les Amphibiens (ROBERTSON, 1969 a et b), les Oiseaux (COPP, 1972) et aussi chez les Poissons. CHAN (1970) obtient, chez *Anguilla japonica*, une faible mais significative augmentation du taux de calcium sanguin. FENWICK (1975) après ultimobranchialectomie partielle de *Carassius auratus* n'obtient pas de variation de la calcémie lorsque les Poissons sont maintenus en eau douce ; lorsque les animaux sont adaptés à un milieu composé d'eau du robinet contenant 30 % d'eau de mer, l'hypercalcémie observée par cet auteur est accrue après ultimobranchialectomie. Notre expérimentation a été faite dans le but de connaître l'effet de la suppression de la CT endogène sur le taux de Ca sanguin, sur l'os et les échanges de Ca à travers les branchies.

I — MISE AU POINT DE L'OPÉRATION

L'ultimobranchialectomie est pratiquée par cautérisation d'après la méthode de CHAN (1972) ; celle-ci a été améliorée de façon à ce que l'opération se déroule sans aucune hémorragie. L'animal est anesthésié au MS 222 (3 g pour 7 litres d'eau). Une incision (1,5 cm à 2 cm) est pratiquée ventralement entre les deux nageoires pectorales. Le cœur est repoussé sur le côté et le tube digestif est incisé sur quelques millimètres. Un thermocautère courbe est introduit dans le tube digestif pour cautériser la région constituée par du tissu conjonctif, contenant le C.U.B. Le schéma (fig. 46) montre que nous ne provoquons aucun dommage aux organes vitaux voisins du C.U.B.

Les bords de la plaie ayant été rapprochés et cousus, l'animal est placé dans un aquarium en eau courante aérée (Ca = 80 mg/l). Nous n'avons jamais constaté de mortalité après cette opération. La cicatrisation est très rapide.

Source : MNHN, Paris

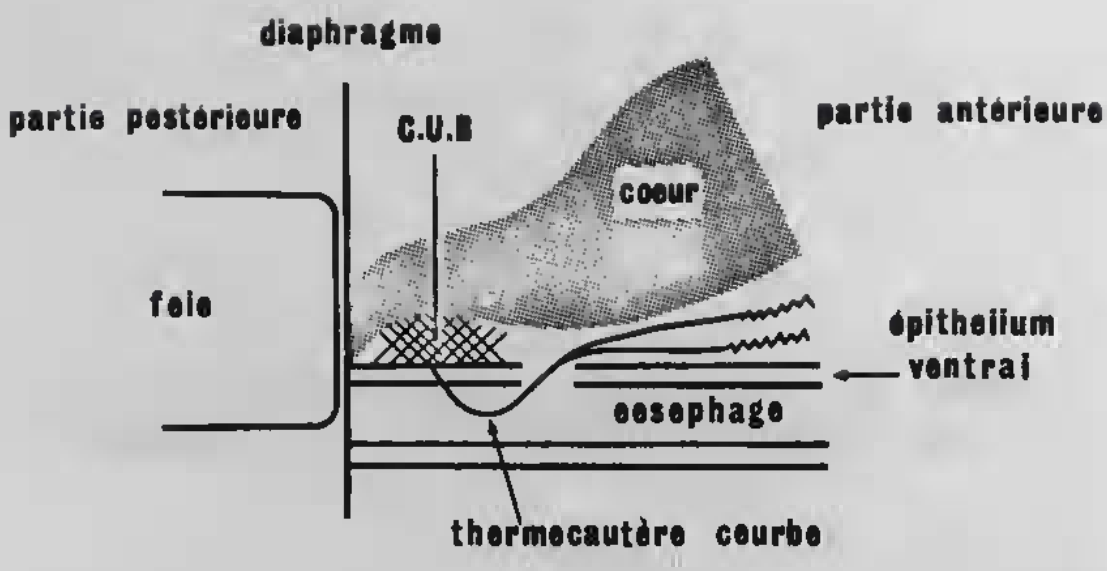


FIG. 46. — Diagramme montrant la localisation du corps ultimobranchial (C.U.B.) chez l'anguille et la méthode de cautérisation employée pour l'ultimobranchialectomie.

II — EFFET DE L'ULTIMOBRANCHIALECTOMIE SUR DIFFÉRENTS PARAMÈTRES DU MÉTABOLISME CALCIQUE CHEZ L'ANGUILLE

A. EFFET DE L'ULTIMOBRANCHIALECTOMIE SUR LE TAUX DE CALCIUM SANGUIN ET LE MÉTABOLISME OSSEUX CHEZ L'ANGUILLE.

1. *Protocole expérimental.*

L'expérience a été pratiquée sur des Anguilles femelles argentées de poids compris entre 170 et 280 g, maintenues en eau du robinet. Deux jours avant l'opération, environ 0,5 ml de sang est collecté par ponction cardiaque, en vue de mesurer les calcémies de départ. Les Anguilles sont divisées en deux groupes :

— le premier groupe (21 animaux) est celui des opérés-témoins : ceux-ci subissent le protocole opératoire décrit précédemment (Chap. IV, I) sauf la cautérisation ;

— le second groupe est constitué de 39 animaux qui sont ultimobranchialectomisés selon le mode opératoire décrit ci-dessus (fig. 46).

Les animaux (du premier et du second groupe) sont sacrifiés de 1 semaine à 6 semaines après l'opération. Le sang est recueilli au moment du sacrifice. La région cautérisée est prélevée et un contrôle histologique est effectué pour s'assurer que le corps ultimobranchial a bien été détruit. Un échantillon d'os vertébral est prélevé sur chaque animal.

2. *Modifications observées.*

a) au niveau du sang.

Chez les Anguilles ultimobranchialectomisées, on observe une augmentation du taux de calcium sanguin par rapport aux valeurs initiales. Cette hypercalcémie atteint un maximum (augmentation de

Source : MNHN, Paris

25%) 2 semaines après l'opération, puis diminue et retrouve une valeur normale 5 semaines après l'opération (fig. 47). Chez les animaux opérés témoins, les variations du taux de calcium sanguin n'excèdent pas 10%, c'est-à-dire les variations individuelles trouvées normalement chez les Anguilles.

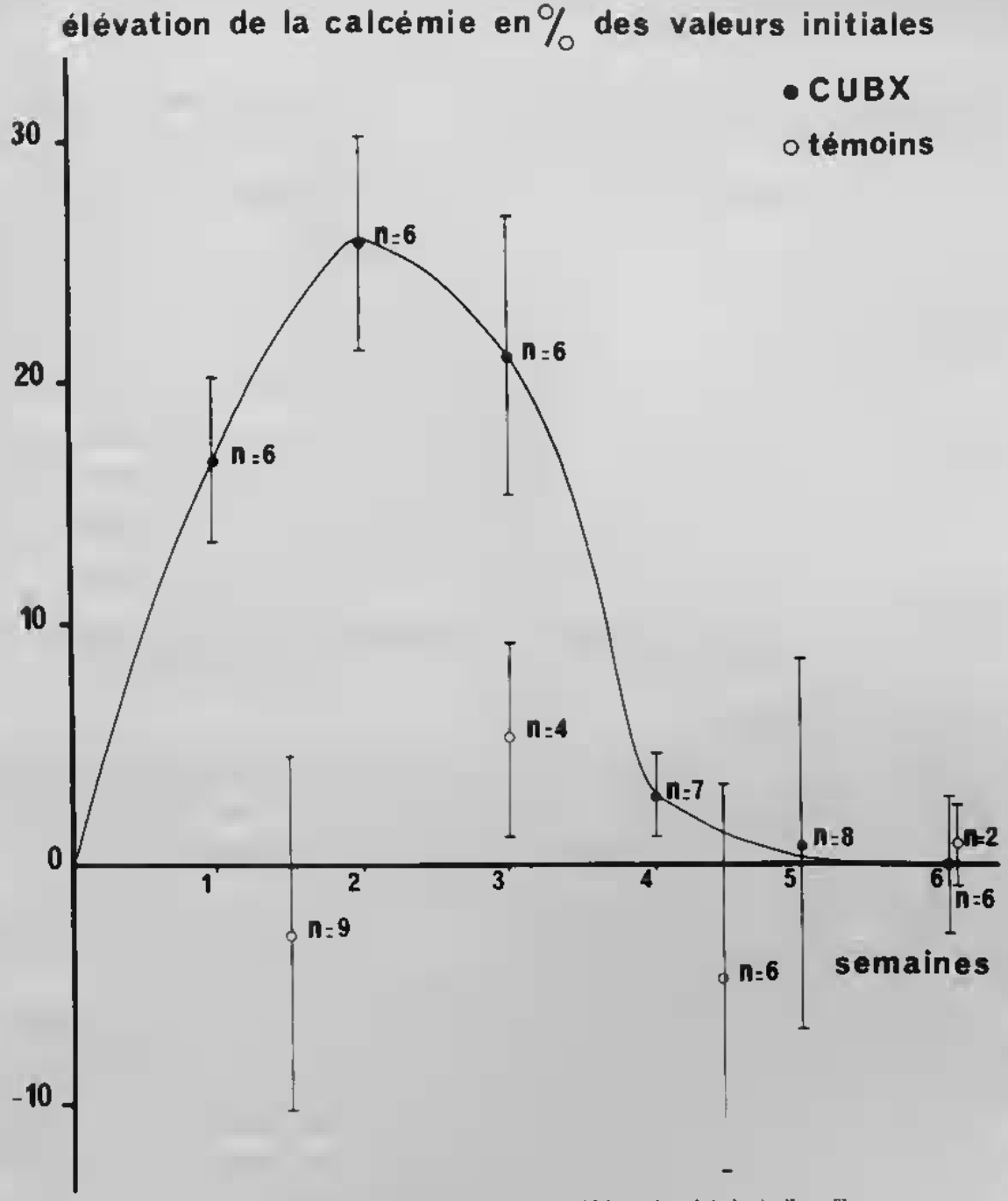


FIG. 47. — Effet de l'ablation du corps ultimobranchial sur la calcémie de l'anguille.

b) au niveau du tissu osseux.

Les modifications qui apparaissent au niveau osseux sont observées une semaine après ultimobranchialectomie et persistent 2, 3 ou 5 semaines après. Il n'y a aucune modification du catabolisme osseux après suppression du C.U.B. Le pourcentage des surfaces en résorption ostéoclastique, ainsi

Source : MNHN, Paris

que celui de l'ostéolyse ostéocytaire est inchangé (tableau n° 15). Par contre, on observe alors une nette diminution du degré de minéralisation de la matrice organique de l'os (tableau n° 15). De plus, l'apposition ostéoblastique est pratiquement inexistante : l'os des Anguilles ultimobranchialectomisées montre des ostéoblastes réduits en taille et en nombre. Ils ne sont plus disposés régulièrement le long de la surface osseuse comme chez les témoins (LOPEZ et al., 1976 a et b).

TABLEAU n° 15. — Effet de l'ultimobranchialectomie sur le métabolisme osseux chez l'Anguille.

	Ostéoclasie %	Ostéolyse %	Apposition ostéoblastique %	Degré de minéralisation g/cm³
Anguilles ♀ argentées+ opérées témoins	13,27 ± 0,36* (9)	3,86 ± 0,14 (9)	4,81 ± 0,13 (9)	1,08 ± 0,02 (9)
Anguilles ♀ argentées+ ultimobranchialectomisées	13,88 ± 0,16 (10)	4,05 ± 0,05 (10)	0,13 ± 0,01 (10)	0,91 ± 0,02 (10)
Signification	N.S	N.S	H.S	H.S

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre d'animaux.

3. *Conclusions et discussion.*

L'augmentation du taux de calcium sanguin observée chez les Anguilles, après ultimobranchialectomie, peut être expliquée, du moins pendant les deux premières semaines, par l'effet de la suppression de la glande sur le métabolisme osseux : déminéralisation de la matrice organique et inhibition de l'apposition ostéoblastique. Ceci n'exclut pas un effet éventuel à d'autres niveaux, le rein par exemple (CHAN, 1972).

L'hypercalcémie est régulée dès la quatrième semaine après l'opération. Il est probable que ce retour rapide à une calcémie normale est dû à l'action des corpuscules de Stannius. En effet, ces glandes qui ont une action hypocalcémiante chez les Téléostéens (FONTAINE, 1964) se montrent très actives pendant les semaines qui suivent l'ultimobranchialectomie (LOPEZ et al., 1976 a).

Contrairement aux résultats de ROBERTSON (1969 a) sur Rana pipiens, nous n'observons pas d'augmentation du nombre des ostéoclastes, ni de la résorption ostéocytaire. Cette différence peut être en rapport avec le fait que, chez les Poissons, nous n'avons montré un effet sur le catabolisme osseux que lorsque celui-ci était très accentué.

Après suppression de la CT endogène, nous obtenons les modifications inverses de celles observées après injection de cette hormone (Chap. III, § I, B) aussi bien sur la calcémie que sur l'os.

B. EFFET DE L'ULTIMOBRANCHIALECTOMIE SUR LES ÉCHANGES DE CALCIUM AU NIVEAU DES BRANCHIES CHEZ L'ANGUILLE.

1. *Protocole expérimental.*

Les mesures de flux branchiaux de calcium ont été faites in vitro sur 26 arcs isolés d'Anguilles ultimobranchialectomisées depuis une semaine (opération effectuée selon le protocole décrit au début

Source : MNHN, Paris

de ce chapitre) et sur 18 arcs branchiaux d'animaux opérés-témoins (ayant subi l'opération sans destruction de la glande).

La technique d'évaluation des flux de calcium à travers les branchies a été exposée en détail au Chapitre III (§ II, 2). Les flux de base sont déterminés pendant les 35 premières minutes de perfusion.

2. *Modifications observées.*

Une semaine après ultimobranchialectomie, le flux basal d'entrée de calcium au niveau branchial est inférieur à celui des témoins. L'opération provoque une diminution faible non significative du flux basal de sortie (tableau n° 16) (PEIGNOUX-DEVILLE et al., 1978).

TABLEAU n° 16. — Effet de l'ultimobranchialectomie sur les flux branchiaux de calcium chez l'Anguille.

	Flux d'entrée µEq/h/kg	Flux de sortie µEq/h/kg
Flux basaux Anguille témoin	0,0168 ± 0,0016*(8)	13,868 ± 3,39 (9)
Flux basaux Anguille ultimo-branchialectomisée	0,00725 ± 0,0009 (10)	11,540 ± 1,617 (12)
Signification**	H.S	N.S

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre de détermination.
** Test employé = test « t » par paires de variables (OSTLE, 1963).

C. EFFET DE L'ULTIMOBRANCHIALECTOMIE SUR LA RÉPONSE DES BRANCHIES À LA CALCITONINE in vitro.

1. *Protocole expérimental.*

Pour comparer l'action, in vitro, de la calcémie sur les animaux témoins ou privés de CT endogène, nous avons poursuivi la perfusion de branchie décrite précédemment (B) en ajoutant au perfusat, 35 minutes après le début de l'expérience (le flux de base étant établi), de la CT synthétique de Saumon (20 ng/ml).

Bien que les flux basaux et avec CT aient été mesurés chez les mêmes animaux, nous avons présenté d'abord, pour la clarté de l'exposé, les effets de l'ultimobranchialectomie (B) puis ceux de la CT ajoutée dans le perfusat.

2. *Modifications observées.*

La calcitonine diminue le flux d'entrée de Ca et augmente le flux de sortie chez les animaux ultimobranchialectomisés (tableau n° 17).

Source : MNHN, Paris

TABLEAU n° 17. — Action de la CT sur les flux branchiaux de calcium chez l'Anguille après ultimobranchialectomie.

	Flux d'entrée µEq/h/kg	Flux de sortie µEq/h/kg
Flux basaux après ultimobranchialectomie	0,00725 ± 0,009*(10)	11,540 ± 1,617 (12)
Flux basaux après ultimobranchialectomie et addition in vitro de CT	0,00539 ± 0,00058 (10)	20,927 ± 2,094 (12)
Signification**	H.S	H.S

* Moyenne ± erreur standard de la moyenne ; ( ) nombre de déterminations.
** Test « t » par paires de variables (OSTLE, 1963).

Les effets de l'hormone sont donc qualitativement similaires à ceux obtenus chez les témoins (tableau n° 14). De plus, la suppression de l'hormone endogène modifie quantitativement la réponse de la branchie à la CT in vitro.

En effet, le flux d'entrée qui était diminué de 39% (par rapport au flux basal) chez les témoins ne l'est plus que de 29%; l'augmentation du flux de sortie par la CT qui était de 47% est de 81% après ultimobranchialectomie. Exprimées en valeur absolue la diminution du flux d'entrée (de 0,0066 ± 0,001 µEq/h/kg à 0,0021 ± 0,005 µEq/h/kg) d'une part et l'augmentation du flux de sortie (de 6,53 ± 0,64 µEq/h/kg à 9,39 ± 1,04 µEq/h/kg) d'autre part sont significatives ($p < 0{,}01$ et $0{,}01 < p < 0{,}05$) (PEIGNOUX-DEVILLE et al., 1978).

3. *Conclusions et discussion.*

L'effet de l'ablation du corps ultimobranchial sur les flux de calcium branchiaux ne se manifeste qu'au niveau du flux d'entrée et, d'une façon qui peut paraître contradictoire puisqu'elle le diminue. Nous supposons qu'il s'agit là d'un effet indirect, médié par les corpuscules de Stannius. MILET et al. (1975) ont en effet montré qu'une semaine après l'ablation des corpuscules de Stannius, le flux d'entrée est augmenté par rapport à celui des témoins, alors que le flux de sortie est diminué. Une perfusion d'extrait de ces glandes diminue le flux d'entrée et augmente le flux de sortie (MILET et al., en préparation). La diminution du flux d'entrée constatée après ultimobranchialectomie serait due à une sécrétion des corpuscules de Stannius qui sont, nous l'avons vu, particulièrement activés après ablation du C.U.B. (Chap. IV, § II, 3).

La suppression de la CT endogène modifie l'intensité des réponses de la branchie à la CT : elle accroît l'action de cette hormone sur le flux de sortie et la diminue au niveau du flux d'entrée. Cette dissociation des effets de la CT sur les flux de calcium suggère une relative indépendance des mécanismes présidant aux transferts de l'ion calcium. Nous avons constaté au cours de nos expérimentations que la modification provoquée par la CT sur le flux d'entrée branchial de divers animaux est

Source : MNHN, Paris

toujours proportionnelle du flux basal (MILET et al., en préparation). Cette corrélation pourrait expliquer le fait que la CT diminue davantage le flux d'entrée chez les animaux témoins que chez les animaux ultimobranchialectomisés, le flux d'entrée étant inférieur chez ces derniers.

CONCLUSIONS ET DISCUSSION

Jusqu'ici, nous avions émis l'hypothèse du rôle joué par le corps ultimobranchial d'après les observations faites à la suite d'injections de calcitonine exogène. L'ultimobranchialectomie, qui nous donne des résultats en accord avec les précédents, nous permet de confirmer cette hypothèse.

SASAYAMA et OGURO, dans un récent travail (1976) traitant de l'effet de l'ablation du corps ultimobranchial sur le taux de calcium du sérum et du liquide cœlomique chez un Anoure, concluent que l'une des fonctions du corps ultimobranchial est de prévenir toute augmentation du taux de calcium dans le milieu intérieur.

De même, chez les Poissons, le corps ultimobranchial, par l'intermédiaire de l'hormone qu'il sécrète, la CT, contrôle le taux de calcium sanguin. Au niveau osseux, il stimule la production et l'activité des ostéohlastes, il augmente le degré de minéralisation de la substance intercellulaire et, dans certains cas, réduit l'ensemble du catabolisme calcique. Au niveau branchial, il accroît le flux net de calcium (fn = fe − fs) qui est un flux négatif.

Selon Mac INTYRE (1970), la calcitonine pourrait agir au niveau de la pompe à calcium cellulaire. En effet, sur des cultures de cellules rénales, elle bloque les sorties de calcium, augmentant ainsi la concentration calcique intracellulaire (BORLE, 1969). Les travaux de MILHAUD et al. (1965) montrant que la CT supprime la sortie de calcium de l'os, sont en accord avec cette hypothèse. Par contre, pour RASMUSSEN et PECHET (1974), la calcitonine activerait la pompe à calcium de la cellule osseuse, en favorisant la sortie de cet ion.

Ces divergences au sujet du mécanisme d'action de l'hormone au niveau cellulaire sont peut-être dues au fait que les différents auteurs cités ne travaillent pas sur les mêmes tissus. En ce qui concerne notre travail, l'épithélium branchial étant formé de plusieurs types de cellules, on peut penser que celles-ci ne réagissent pas toutes de la même façon à la calcitonine.

BORLE (1972) donne plus d'importance aux échanges de calcium qui se font à l'intérieur de la cellule, c'est-à-dire entre cytoplasme et mitochondries. Cet auteur pense, mais sa thèse est controversée, qu'un changement dans le flux de sortie de calcium de la cellule pourrait être la conséquence, plutôt que la cause, des fluctuations de l'accumulation du calcium dans le cytoplasme. Les hormones et d'autres substances (comme l'AMPc) qui influencent le calcium cellulaire pourraient agir sur les échanges de calcium entre cytoplasme et mitochondries, plutôt qu'affecter directement les flux d'entrée et de sortie de calcium de la cellule. Ceci semble vrai, particulièrement pour l'effet de l'hormone parathyroïdienne chez les Vertébrés supérieurs. Le transport d'un ion peut s'effectuer de trois façons différentes : 1) passivement, c'est-à-dire selon la valeur du gradient électrochimique ; 2) activement, c'est-à-dire couplé au métabolisme cellulaire via un système transporteur utilisant de l'énergie et 3) par échange-diffusion. Pour USSING (1947) qui a découvert ce phénomène dans le muscle, les hématies et les mitochondries, tout se passe comme si l'ion traversait la membrane en combinaison avec une molécule transporteur et aucune énergie ne serait nécessaire.

COPELAND (1948) pense que dans la branchie, il peut exister une séparation spatiale entre l'échange-diffusion et le transport actif responsable de l'excrétion du chlorure de sodium. Les cellules épithéliales seraient le siège de l'échange-diffusion et les cellules à chlorure assureraient le transport actif de sel.

Un travail récent effectué au laboratoire (CHARTIER et al., 1977) a montré que les cellules à chlorure étaient plus nombreuses et très activées après ablation des corpuscules de Stannius, opération qui provoque une entrée accrue de calcium à travers les branchies (FONTAINE et al., 1972). Les cellules à chlorure, qui pourraient jouer un rôle similaire à celui des cellules tubulaires du rein et excréter des substances organiques et inorganiques (MOTAIS et GARCIA ROMEU, 1972) sont susceptibles d'être le siège du transport actif de calcium.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

CONCLUSIONS ET DISCUSSIONS GÉNÉRALES

En abordant l'étude de l'homéostasie calcique et en particulier du rôle du corps ultimobranchial chez les Poissons Téléostéens, nous nous sommes posés de nombreuses questions dont la plus importante était : cette glande endocrine joue-t-elle un rôle dans la régulation du métabolisme calcique et de quelle façon? Les résultats que nous avons obtenus permettent d'y répondre.

Les caractères ultrastructuraux du C.U.B. de l'Anguille que nous avons mis en évidence, correspondent à ceux décrits par PEARSE comme étant typiques des cellules de la série des APUD, notamment la présence de microfilaments qui ont été signalés dans les cellules ultimobranchiales et les cellules C, dans toute la série des Vertébrés par plusieurs auteurs : chez le Rat par MATSUZAWA (1966), chez les Oiseaux par WELSCH et al. (1969), chez les Amphibiens par COLEMAN (1970). Leur signification n'est pas connue.

La mise en évidence du captage de DOPA et de la fluorescence qui s'ensuit apporte un argument supplémentaire permettant de classer les cellules ultimobranchiales de Poissons dans la série des APUD. Cependant, aucune observation ne nous permet, comme l'ont fait PEARSE et al. (1971), chez les Mammifères, d'en déduire que le C.U.B. des Vertébrés inférieurs dérive des crêtes neurales. Ceci n'a été démontré, pour le moment, que chez les Oiseaux (LE DOUARIN et LE LIÈVRE, 1970).

Chez les Poissons, la question de l'origine embryologique des cellules à CT reste posée.

L'importance de la calcémie dans la régulation de l'activité du corps ultimobranchial ou des cellules C, était établie chez les Tétrapodes, du moins chez les Amphibiens (ROBERTSON, 1971), chez les Oiseaux (URIST, 1967 ; COPP et al., 1968 ; CHAN A. S. et al., 1968-1969 ; CIPERA et al., 1970) et les Mammifères (HIRSCH and MUNSON, 1969), mais cela n'avait jamais été prouvé chez les Poissons lorsque nous avons commencé ce travail.

Nous avons montré que des hypercalcémies d'origine diverse entraînaient, chez les différentes espèces étudiées, des changements morphologiques du corps ultimobranchial témoignant d'une activité accrue. De plus, une surcharge calcique dans le régime alimentaire entraîne une stimulation du C.U.B. chez les Scaridés. Ces résultats sont à rapprocher de ceux de DACKE et al. (1971) et de DEFTOS et al. (1972) qui, respectivement, injectant du calcium et ajoutant cet ion au milieu extérieur, constatent une augmentation du taux de CT dans le sang des Poissons. Récemment, ORIMO et al. (1976) ont montré qu'une injection intrapéritonéale de Ca à une dose pharmacologique provoque une sécrétion accrue de CT chez l'Anguille.

Nous supposions donc qu'il existe une relation entre l'hormone secrétée par le corps ultimobranchial et le taux de calcium sanguin. Des résultats récents de dosage de calcitonine dans le plasma (d'Anguilles témoins, traitées à l'hypophyse de Carpe et stanniectomisées) confirment cette hypothèse (MAC INTYRE et al. résultats inédits). Il restait cependant à connaître les effecteurs de la CT chez les Poissons.

Les expériences entreprises dans ce but ont inclus soit la suppression de la calcitonine endogène, par ablation du corps ultimobranchial, soit l'injection d'hormones exogènes. Rappelons que celles-ci étaient soit la calcitonine synthétique de Saumon, soit la calcitonine de Porc ; les résultats positifs observés alors montrent, notons-le, que ces hormones n'ont pas une spécificité zoologique d'action stricte.

Source : MNHN, Paris

Nous avons montré que la calcitonine agit :

1° sur l'os en réduisant le catabolisme osseux lorsque celui-ci est accentué, mais surtout en stimulant l'anabolisme. Cette hormone augmente le degré de minéralisation de la substance intercellulaire et accentue l'apposition ostéoblastique. Ces effets vont dans le sens d'une réduction du taux de calcium circulant. Il est probable que la CT règle les échanges de calcium intervenant entre les compartiments intraosseux et extraosseux (LOPEZ, 1973). Ces échanges semblent particulièrement importants dans la régulation de l'homéostasie calcique ainsi que nous l'avons souligné (LOPEZ et al., 1976 a) et que le remarquait récemment FENWICK (1974).

On peut penser que cette hormone agit au niveau de la limitante cellulaire.

2° sur l'épithélium branchial, en réduisant le flux d'entrée de calcium et surtout en augmentant le flux de sortie de calcium, la calcitonine tend à réduire la calcémie.

De plus, nous avons mis en évidence que les effets de l'hormone sont qualitativement les mêmes, que les Anguilles soient ou non privées de corps ultimobranchial. Cependant, la suppression de l'hormone endogène modifie quantitativement la réponse de la branchie à la calcitonine.

Si l'on compare ces résultats, acquis chez les Poissons, à ceux qui ont été établis chez les Mammifères sur le rôle de la calcitonine au niveau osseux (MILHAUD et al., 1965) et au niveau rénal (MILHAUD and JOB, 1966 ; ARDAILLOU et al., 1967), on peut en conclure que cette hormone est hypocalcémiante dans les deux groupes extrêmes de la série des Vertébrés. Cependant, l'hypocalcémie qu'elle provoque résulte d'actions de l'hormone sur des effecteurs divers.

Chez les Poissons, l'action anabolisante de la calcitonine au niveau osseux semble prépondérante, alors que chez les Mammifères, cette hormone inhibe surtout le catabolisme osseux. Son action sur le rein et l'intestin est encore controversée chez les Mammifères. Elle a été très peu étudiée chez les Poissons (CHAN D.K.O. et al., 1968). Par contre, chez ces derniers, les branchies semblent être un effecteur important.

***

Si l'on considère maintenant dans son ensemble le déterminisme endocrinien de l'homéostasie calcique, il faut rappeler que d'autres différences, importantes, existent entre Poissons Téléostéens et Mammifères. Tout d'abord les parathyroïdes n'existent vraisemblablement pas chez les premiers et les effets hormonaux favorisant le catabolisme osseux sont nombreux, et certainement, au moins en partie, sous contrôle hypophysaire (LOPEZ, 1973).

Les corpuscules de Stannius que l'on trouve chez les Holostéens et les Téléostéens sécrètent un principe hypocalcémiant qui n'agit pas sur l'os, sinon par l'intermédiaire du corps ultimobranchial, mais dont le principal effet a été démontré sur le transport de calcium au niveau des branchies (FONTAINE et al., 1972 ; MILET et al., 1975).

De plus, nous avons montré que le métabolite actif de la vitamine D, le 1-25 dihydroxycholécalciférol (le 1-25 $(OH)_2$ D_3) stimule la résorption et la déminéralisation osseuses et provoque une activation très nette du corps ultimobranchial. Peut-être sommes-nous en présence d'un facteur directement antagoniste de la calcitonine chez les Poissons.

Il est intéressant de placer l'ensemble de ces résultats sur la régulation de l'homéostasie calcique chez les Poissons osseux dans un cadre plus général en envisageant l'évolution de cette fonction chez les Vertébrés.

Les Agnathes, s'ils n'ont pas une véritable homéostasie calcique, présentent une certaine aptitude à réguler leur taux de calcium sanguin puisque dans les deux groupes de Cyclostomes, chez les Myxinoïdes et les Petromyzonoïdes, on trouve une concentration en calcium sérique très différente de celle du milieu extérieur (URIST, 1963). Cependant, la Lamproie migratrice (Petromyzon marinus), au moment de la maturation génitale, montre une diminution de ses capacités osmorégulatrices (FONTAINE, 1930 ; CALLOWAY, 1933). Ce groupe de Vertébrés inférieurs ne possédant, du moins en tant que tels, ni C.U.B., ni corpuscules de Stannius, ni parathyroïdes, on peut se demander quel est le mécanisme endocrinien qui règle leur relativement bonne régulation calcique. FONTAINE et LOPEZ (1977) émettent l'hypothèse

Source : MNHN, Paris

d'une intervention de l'hypophyse. En effet, FONTAINE et VELUT (1976, cité dans FONTAINE et LOPEZ, 1977) obtiennent une élévation hautement significative de la calcémie des Poissons Chats (*Ictalurus melas*) après injections d'extraits hypophysaires de Lamproie (*Petromyzon marinus*). De plus, les Agnathes ne possédant pas de squelette osseux, mais un cartilage non calcifié, ils n'ont pas de réserves phosphocalciques et on peut se demander d'où viennent les éléments nécessaires au maintien de leur balance calcique? URIST et VAN de PUTTE (1966) pensent que la concentration en phosphore et en calcium du milieu intérieur dépend « en cycle ouvert » du milieu extérieur. On peut dire qu'une bonne homéostasie calcique n'apparaît qu'à partir des Cnathostomes, c'est-à-dire des Poissons possédant un corps ultimobranchial (tableau n° 1).

Les Gnathostomes les plus primitifs que sont les Chondrichthyens sont les premiers Vertébrés à posséder un corps ultimobranchial, riche en calcitonine, hormone jusqu'ici considérée comme agissant essentiellement sur l'os. On explique la présence de cet organe chez les Élasmobranches par le fait que les Chondrichthyens, dont ils font partie, ne seraient pas les ancêtres directs des Poissons osseux (Osteichthyens), mais descendraient de formes relativement récentes possédant un squelette osseux (MOY-THOMAS, 1939).

Puisque, comme nous l'avons montré au cours de ce travail, la calcitonine agit au niveau branchial, il est possible que cette hormone ait une action importante chez les Élasmobranches pour l'épithélium branchial, mais aussi peut-être sur le cartilage calcifié. Aucun travail n'existant sur le rôle du C.U.B. dans le métabolisme phosphocalcique chez les Élasmobranches, ce sujet nous paraît être un excellent domaine pour nos recherches futures.

Pour les Osteichthyens, l'os constitue une réserve importante de phosphate de calcium. C'est dans ce groupe, à partir des Holostéens, Poissons d'eau douce, qu'apparaissent les corpuscules de Stannius qui existent aussi chez les Téléostéens puis disparaissent. Leur ablation chez les Téléostéens entraîne, nous l'avons vu, une forte hypercalcémie, à condition que le milieu extérieur soit riche en calcium (FONTAINE, 1964-1967). Le principe hypocalcémiant sécrété par ces glandes agit au niveau branchial (MILET et al., 1975) et, on peut le supposer, aussi au niveau intestinal et rénal, mais pas directement sur l'os (LOPEZ, 1973). Nous avons montré que l'arrêt de la résorption ostéoclastique constatée après ablation de ces glandes est dû à la calcitonine endogène secrétée par un C.U.B. hyperactif.

Les Téléostéens possèdent donc, en l'état actuel de nos connaissances, deux glandes hypocalcémiantes : les corpuscules de Stannius et le corps ultimobranchial qui agit, ainsi que nous l'avons montré, au niveau de l'os et des branchies. Nous pensons que l'hypercalcémie consécutive à l'ablation de l'une ou l'autre de ces glandes est régulée, plus ou moins rapidement, par la glande restante, à ce moment hyperactive (LOPEZ et al., 1968 ; LOPEZ et al., 1976 a et b). C'est sans doute pour cette raison que l'effet de la calcitonine sur le taux de calcium sanguin a toujours été si difficile à mettre en évidence chez les Poissons Téléostéens.

Chez ces derniers, comme chez tous les Poissons, la glande parathyroïde n'a jamais pu être mise en évidence. Les effets qui sont exercés par la parathormone chez les Mammifères sont-ils le fait d'autres hormones chez les Poissons? L'hypophyse joue certainement un rôle dans le maintien de l'homéostasie calcique, rôle antagoniste de celui des deux glandes précitées. En effet, l'hypophysectomie, chez l'Anguille, entraîne une chute de la calcémie (FONTAINE, 1955) qui peut être corrigée par l'injection d'extraits pituitaires (PANG et al., 1973). L'injection de ces mêmes extraits provoque une importante hypercalcémie chez l'Anguille (FONTAINE et al., 1964). Signalons aussi que la prolactine mammalienne tend à élever la calcémie chez l'Anguille (OLIVEREAU et LEMOINE, 1973). Enfin, nos résultats récents indiquent que le 1-25 $(OH)_2$ D_3 est susceptible de jouer, de ce point de vue, un rôle physiologique majeur.

Chez les Poissons Téléostéens, qui vivent le plus généralement dans des eaux riches en calcium, le problème de la protection contre un trop gros apport calcique semble primordial : les corpuscules de Stannius et le C.U.B. les protègent contre une entrée massive de cet ion par les branchies et le C.U.B., dans certains cas, empêche la déminéralisation osseuse et favorise au contraire l'anabolisme osseux.

À la lumière de nos résultats concernant l'action du métabolisme actif de la vitamine D, le 1-25 $(OH)_2$ D_3, qui, chez l'Anguille, augmente le taux de phosphate sanguin indépendamment du cal-

Source : MNHN, Paris

cium, une hypothèse a été avancée : au Devonien, lorsque les premiers Vertébrés sont apparus, les mers étant pauvres en phosphate, le problème, pour ce groupe, aurait été de se procurer cet ion ; on peut supposer que la vitamine D qui favorise la déminéralisation osseuse, donc la libération du phosphate de calcium (LOPEZ et al., 1976 a et b) a déjà joué un rôle important, à cette époque, dans le métabolisme phosphocalcique (Mac INTYRE et al., 1976).

Il est remarquable de constater que c'est chez les Amphibiens, lorsque le passage de la vie aquatique à la vie terrestre se réalise, qu'apparaissent les parathyroïdes. Il est généralement supposé que chez ces animaux, le besoin d'une protection contre une perte de calcium se faisant sentir, cet ion n'étant plus apporté à l'organisme que par l'alimentation, une hormone pourvoyeuse de calcium était nécessaire. La parathormone libère cet ion à partir du squelette. Chez les Tétrapodes, ce sont principalement deux hormones antagonistes : la calcitonine et la parathormone qui assurent le maintien de la calcémie à une valeur stable.

Source : MNHN, Paris

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARDAILLOU, R., VUAGNAT, P., MILHAUD, G., RICHET, C. — Effets de la thyrocalcitonine sur l'excrétion rénale du phosphore, du calcium et des ions H^+ chez l'homme normal. *J. Physiol.* (Paris), 59, suppl. 1, 204 (1967).

AZZALI, G. — Ultrastructure des cellules parafolliculaires de la thyroïde chez quelques Mammifères. *Ann. Endocrinol.* (Paris), suppl. 25, 8-13 (1964).

BAILEY, R. E. — The effect of estradiol on serum calcium, phosphorus and protein of goldfish. *J. Exp. Zool.*, 136, 455-469 (1957).

BARLET, J. P. — Rôle de la calcitonine dans la régulation du métabolisme phosphocalcique des ruminants. Cas particulier : le syndrome vitulaire de la Vache laitière. Thèse présentée à l'Université de Clermont, (1971).

BARLET, J. P., CAREL, J. M. — Physiological role of calcitonin in pregnant goats and ewes. Proceedings of the Fifth Parathyroid Conference. Oxford, United Kingdom, July 21-26. *Excerpta Medica* Amsterdam, série n° 346 (1974).

BARTER, R., PEARSE, A. G. E. — Detection of 5-hydroxytryptamine in mammalian enterochromaffin cells. *Nature* (London), 172, 810 (1953).

BARTER, R., PEARSE, A. C. E. — Mammalian enterochromaffin cells as the source of serotonin (5-hydroxytryptamine). *J. Path. Bact.*, 69, 25 (1955). .

BARTTER, F. C., PARK, C. Y. C., LIFSCHITZ, M., EAST, D. — The role of calcium infusions and thyrocalcitonin in the treatment of metabolic bone diseases. In : C. Y. C. PARK, B. BURKIN, A. CASPER. Renal effects of thyrocalcitonin in : Calcitonin 1969. Proceedings of the second International Symposium. London 21-24 July, ed. S. Taylor Heineman, medical books Ltd. 281-294 (1970).

BAUD, C. A. — Radiographies et microradiographies osseuses quantitatives. *Praxis*, 46, 329-331 (1957).

BAUD, C. A., de SIEBENTHAL, J., LANGER, B., TUPLING, M. R., MACH, R. S. — The effects of prolonged administration of thyrocalcitonin in human senile osteoporosis. In : Calcitonin 1969. Proceedings of the 2nd International Symposium. London 21-24 July ed. S. Taylor Heineman medical books Ltd. 540-546 (1970).

BELANGER, L. F. — Osteocytic osteolysis. Calcified. Tissue. Res., 4, 1-12 (1969).

— The ultimobranchial gland of birds and the effects of nutritional variations. *J. Exp. Zool.*, 178, 125-138 (1971).

BILLS, C. E., HARRIS, R. S., JONES, J. H., KANOF, A., KRAMER, B. — Vitamin D group. In : « The Vitamins — Chemistry, Physiology, Pathology », W. H. Sebrell Jr, R. S. Harris, Eds., Academic Press, II. 131-266 (1954).

BLUNT, J. W., De LUCA, H. F., SCHNOES, H. K. — 25-hydroxycholecalciferol. A biologically active metabolite of Vitamin D_3. *Biochem.*, 7, 3317-3322 (1968).

BOBIN, C. — Images histo-cytologiques des corpuscules de Stannius de l'Anguille européenne. *Arch. Zool. Exp. Gen.*, 86, 1-7 (1949).

BORLE, A. B. — Effects of thyrocalcitonin on calcium transport in kidney cells. *Endocrinology*, 85, 194-196 (1969).

— Kinetic analysis of calcium movements in cell culture. V. Intracellular calcium distribution in kidney cells. *J. Membrane Biol.*, 10, 45-66 (1972).

BUSSOLATI, C., PEARSE, A. G. E. — Immunofluorescent localization of calcitonin in the « C » cells of pig and dog thyroid. *J. Endocrinol.*, 37, 205-210 (1967).

Source : MNHN, Paris

BUTLER, D. G. — Corpuscles of Stannius and renal physiology in the eel (Anguilla rostrata). *J. Fish. Res. Can.*, 26, 639-654 (1969).

CALVERT, R. — Transitional cells in the postnatal thyroid gland of the rat. *Anat. Rec.*, 171, 341-360 (1972).

— Structure of rat ultimobranchial bodies after birth. *Anat. Rec.*, 181, 561-580 (1975).

CALVERT, R., ISLER, H. — Fine structure of a third epithelial component of the thyroid gland of the rat. *Anat. Rec.*, 168, 23-42 (1970).

CAMP, W. E. — The development of the suprapericardial (post branchial, ultimobranchial) body in Squalus acanthias. *J. Morphol.*, 28, 369-415 (1917).

CANCEDDA, M., ANGIOI, A. — Sul meccanismo d'azione della tirocalcitonina. *Atti della societa italiana delle scienze veterinarie*, 23, 310-313 (1969).

CHAN, A. S., CIPERA, J. D., BELANGER, L. F. — The ultimobranchial gland of the Chick and its response to a high calcium diet. *Proc. Can. Fed. Soc.*, 11, 34 (1968).

—, —, — The ultimobranchial gland of the Chick and its response to a high calcium diet. *Rev. Can. Biol.*, 28, 19-31 (1969).

CHAN, D. K. O. — Endocrine regulation of calcium and inorganic phosphate balance in fresh-water adapted teleost fish, Anguilla anguilla and Anguilla japonica. In : Progress in Endocrinology. Proceedings of the 3rd International Congress Endocrinol. ed. C. Gual. Amsterdam : *Excerpta Medica*, 709-716 (1970).

— Hormonal regulation of calcium balance in teleost fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, suppl. 3, 411-420 (1972).

CHAN, D. K. O., CHESTER-JONES, I., SMITH, R. N. — The effect of mammalian calcitonin on the plasma levels of calcium and inorganic phosphate in the European eel (Anguilla anguilla L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 11, 243-245 (1968).

CHARTIER-BARADUC, M. M. — Effets de l'administration prolongée d'hormones thyroïdiennes sur la composition hydrominérale de quelques tissus de la Truite arc-en-ciel, Salmo gairdneri. *C. R. Soc. Biol.*, 162, n° 3, 640-641 (1968).

CHARTIER-BARADUC, M. M. — Résultats inédits.

CHARTIER-BARADUC, M. M., MILET, C., LOPEZ, E., LALLIER, F., MARTELLY, E., WARROT, S. — Modifications morphologiques, cytologiques et biochimiques de la branchie d'Anguilla anguilla L. après ablation des corpuscules de Stannius. *J. Physiol.* (Paris), 73, 23-36 (1977).

CHESTER-JONES, I., HENDERSON, I. W., CHAN, D. K. O., RANKIN, J. C. — Steroids and pressor substances in long fish with special reference to the adrenal cortex and corpuscles of Stannius of the eel... (Anguilla anguilla L.). Proceedings of the 2nd International Congress Steroid Hormones, Milan, 23-28 May. *Excerpta Medica* Foundation Internat. Congr. Ser., 99, 136-143 (1967).

CIPERA, J. D., CHAN, A. S., BELANGER, L. F. — Evidence for the increased hypocalcemic activity in hypercalcemic chicks. In : Calcitonin 1969. Proceedings of the 2nd International Symposium London, 21-24 July, ed. S. Taylor. Heinemann medical books, Ltd., 320-326 (1970).

CLARK, N. B., FLEMING, W. R. — The effect of mammalian parathyroid hormone on bone histology and serum calcium levels in Fundulus kansae. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 3, 461-467 (1963).

COLEMAN, R. — The fine structure of ultimobranchial secretory cells in the anurans : Rana temporaria L. and Bufo bufo L. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.* 110, 301-310 (1970).

— A comparative ultrastructural study on ultimobranchial glands of some Israeli anurans (Bufo viridis, Rana ridibunda and Hyla arborea). *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 129, 40-50 (1972).

— The development and fine structure of ultimobranchial glands in larval anurans. II. Bufo viridis, Hyla arborea and Rana ridibunda. *Cell. Tiss. Res.*, 164, 215-232 (1975).

COLEMAN, R., PHILLIPS, A. D. — Ultimobranchial gland ultrastructure of larval Axolotls Amblystoma mexicanum Shaw, with some observations on the newt, Pleurodeles waltlii Micahelles. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 134, 183-192 (1972).

COLEMAN, R., PHILLIPS, A. D. — The development and fine structure of the ultimobranchial glands in larval Rana temporia L. *Cell. Tiss. Res.*, 148, 69-82 (1974).

COLLIN, J. P., BARLET, J. P. — Études qualitatives et quantitatives de l'activité des cellules à calcitonine chez la Brebis (Ovis aries L.) parturiente. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 126, 363-373 (1972).

COONS, A. H., LEDUC, E. H., CONNELLY, J. M. — Studies on antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. *J. Exp. Med.*, 102, 49-59 (1955).

Source : MNHN, Paris

COPELAND, D. E. — The cytological basis of chloride transfer in the gills of Fundulus heteroclitus. *J. Morphol.*, 82, 201-227 (1948).

COPP, D. H. — The ultimobranchial glands and calcium regulation. In Fish Physiology, Vol. II, W. S. Hoar and D. T. Randall, eds. Academic Press, N. Y., 377-398 (1969).

— Endocrine regulation of calcium metabolism. *Ann. Rev. Physiol.*, 32, 61-86 (1970).

— Evolution of calcium regulation in Vertebrates. Clinics in Endocrinology and Metabolism, 1, 21. Ed. I. Mac Intyre, Saunders and Co, Philadelphia, Pa. (1972).

COPP, D. H., BROOKS, C. E., LOW, B., NEWSONE, F., O'DOR, R. K., PARKES, C. O., WALKER, V., WATTS, E. G. — Calcitonin and ultimobranchial function in lower Vertebrates. In : Calcitonin 1969. Proceedings of the 2nd International Symposium London, 21-24 July, ed. S. Taylor Heinemann medical books Ltd 281-294 (1970).

COPP, D. H., CHENEY, B. — Calcitonin, an hormone from the parathyroid which lowers the calcium level of the blood. *Nature*, G. B., 193, 381-382 (1962).

COPP, D. H., COCKROFT, D. W., KUEH, Y. — Calcitonin from ultimobranchial glands of dogfish and chicken. *Science*, 158, 924-925 (1967).

COPP, D. H., PARKES, C. O. — Extraction of calcitonin from ultimobranchial tissue. In : Parathyroid Hormone and Thyrocalcitonin (Calcitonin), eds. R. V. Talmage and L. F. Bélanger. *Excerpta Medica Found.*, Amsterdam, 74-84 (1968).

COPP, D. H., WEBBER, W. A., LOW, B., KUEH, Y., BIELY, J. — Effects of dietary calcium on ultimobranchial morphology in chickens. *Proc. Can. Fed. Biol. Soc.*, 11, 34 (1968).

CURRIE, G. N., BLACK, D. L. — Effects of oestrogen on thyrocalcitonin activity in male and female rabbits. *Acta Endocrinol.*, 71, 55-61 (1972).

DACKE, C. G., BOELKINS, J. N., SMITH, W. K., KENNY, A. D. — Plasma calcitonin levels in birds during the ovulation cycle. *J. Endocrinol.*, 54. 369-370 (1972).

DACKE, C. G., FLEMING, W. R., KENNY, A. D. — Plasma calcitonin levels in fish. *Physiologist*, 14, 127. Abstract (1971).

DACKE, C. G., FURR, B. J. A., BOELKINS, J. M., KENNY, A. D. — Sexually related changes in plasma calcitonin levels in japanese quail. *Comp. Biochem. Physiol.*, 55 A, 341-344 (1976).

DEFTOS, L. J., WATTS, E. G., COPP, D. H. — Sex differences in calcitonin secretion by salmon. In : Proceedings of the 4th International Congress on Endocrinology. International Congress. Serie n° 256. *Excerpta Medica*, Amsterdam. p. 180 (1972).

DEVILLE, J., LOPEZ, E. — Le corps ultimobranchial du Saumon, Salmo salar L. Étude histophysiologique à diverses étapes de son cycle vital en eau douce. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.*, 59. 393-402 (1970).

DUDLEY, J. — The development of the ultimobranchial body of the fowl, Gallus domesticus. *Amer. J. Anat.*, 71, 65-89 (1942).

EGGERT, B. — Der ultimobranchiale Korper der Knochenfische. *Z. Zellforsch Mikroskop. Anat.*, 27, 751-763 (1938).

EKHOLM, R., ERICSON, L. E. — The ultrastructure of the parafollicular cells of the thyroid gland in the rat. *J. Ultrastruct. Res.*, 23. 378-402 (1968).

FALCK, B. — Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method. *Acta Physiol. Scand.*, 56, suppl. 197, 1-24 (1962).

FENWICK, J. C. — The comparative in vitro release of calcium from dried and defatted eel and rat bone fragments, and its possible significance to calcium homeostasis in Teleosts. *Canad. J. Zool.*, 52, 755-764 (1974).

— Effect of partial ultimobranchialectomy on plasma calcium concentration and on some related parameters in goldfish (Carassius auratus L.) during acute transfer from fresh water to 30% sea water. *Gen. Comp. Endocrinol*, 25, 60-64 (1975).

FLEMING, W. R., MEIER, A. H. — The effect of mammalian parathormone on the serum calcium levels of Fundulus kansae and Fundulus catenatus. *Comp. Biochem. Physiol.*, 2, 1-7 (1961 a).

—, — Further studies on the effect of mammalian parathyroid extract on the serum calcium levels of two closely related Teleost. *Comp. Biochem. Physiol.*, 3, 27-29 (1961 b).

FLEMING, W. R., STANLEY, J. G., MEIER, A. H. — Seasonal effects of external calcium, estradiol and ACTH on the serum calcium and sodium levels of Fundulus kansae. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 4. 61-67 (1964).

Source : MNHN, Paris

FLESCHMAN, W. — Comparative physiology of the thyroid gland. *Quart. Rev. Biol.*, 22, 119-140 (1947).

FONTAINE, M. — Recherches sur le milieu intérieur de la Lamproie marine (Petromyzon marinus). Ses variations en fonction de celles du milieu extérieur. *C. R. Acad. Sci.* Ser. D (Paris), 191, 680-684 (1930).

FONTAINE, M. — The hormonal control of water and salt electrolyte metabolism in fish. *Mem. Soc. Endoc.*, 5, 69-82 (1955).

— Corpuscules de Stannius et régulation ionique (Ca, K, Na) du milieu intérieur de l'Anguille (Anguilla anguilla L.). *C. R. Acad. Sci.* Ser. D (Paris), 259, 875-878 (1964).

— Intervention des corpuscules de Stannius dans l'équilibre phosphocalcique du milieu intérieur d'un Poisson Téléostéen, l'Anguille. *C. R. Acad. Sci.* Ser. D (Paris), 264, 736-737 (1967).

FONTAINE, M., BAUD, C. A., CHARTIER-BARADUC, M. M., DEVILLE, J., LOPEZ, E. — De quelques particularités du métabolisme du calcium chez les Scaridés des îles Gambier. Extrait des *Cahiers du Pacifique*, n° 18, II, 579-584 (1974).

FONTAINE, M., BERTRAND, E., LOPEZ, E., CALLAMAND, O. — Sur la maturation des organes génitaux de l'Anguille femelle (Anguilla anguilla L.) et l'émission spontanée des œufs en aquarium. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 259, 2907-2910 (1964).

FONTAINE, M., CHARTIER-BARADUC, M. M., DEVILLE, J., LOPEZ, E., PONCET, M. — Sur les variations de la calcémie observées chez Salmo salar L. à diverses étapes de son cycle vital. Leur déterminisme endocrinien et leur intervention éventuelle sur le comportement. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 268, 1958-1961 (1969).

FONTAINE, M., DELERUE, N., MARTELLY, E., MARCHELIDON, J., MILET, C. — Rôle des corpuscules de Stannius dans les échanges de calcium d'un poisson Téléostéen, l'Anguille (Anguilla anguilla L.) avec le milieu ambiant. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 275, 1523-1528 (1972).

FONTAINE, M., DEVILLE, J., LOPEZ, E. — Ecology and regulation of calcium metabolism in coral Grazer parrot fish. Abstract for the International Symposium on the Oceanography of the South Pacific ; 9-15 Février 1972, Wellington, New-Zealand, Comp. R. Fraser, New-Zealand national commission for UNESCO, Wellington, 367-371 (1973).

FONTAINE, M., HATEY, J. — Sur la teneur en 17-hydroxycorticostéroïdes du plasma de Saumon (Salmo salar L.). *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 239, 319-321 (1954).

FONTAINE, M., LELOUP, J. — Le fonctionnement thyroïdien du Saumon adulte (Salmo salar L.) à quelques étapes de son cycle migratoire. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2, 317-322 (1962).

FONTAINE, M., LELOUP, J., OLIVEREAU, M. — La fonction thyroïdienne du jeune Saumon (Salmo salar L.) parr et smolt et son intervention possible dans la migration d'avalaison. *Arch. Sci. Physiol.*, 6, 83-104 (1952).

FONTAINE, M., LOPEZ, E. — Endocrine function of corpuscles of Stannius with special reference to the physiological preparation for catadromic migration of two migratory teleost (Salmo salar L. and Anguilla vulgaris L.). Reprinted from abstracts of papers presented at the 23th International Congress of Physiological Sciences. Tokyo, p. 244 (1965).

FONTAINE, M., LOPEZ, E. — Comparative endocrine aspects of calcium homeostasis. In Endocrinology Proc. of the 5th International Congress of Endocrinology, Hamburg, July 1976. Ed. V. H. T. James ; *Excerpta Medica*, Amsterdam-Oxford, 277-281 (1977).

FONTAINE, M., OLIVEREAU, M. — Interrénal antérieur et smoltification chez Salmo salar L. *J. Physiol.* Paris, 49, 174-176 (1957).

FONTAINE, M., VELUT, L. — cité dans FONTAINE, M., LOPEZ, E. (1977).

FOSTER, C. V., DOYLE, F. H., BORDIER, Ph., MATRAJT, H. — Effect of thyrocalcitonin on bone. *Lancet*, 2, 1428 (1966).

FRANKEL, S., YASUMURA, S. — Changes in the thyroidal content of thyrocalcitonin produced by vitamin D in rats. *Endocrinology*, 88, 267-270 (1971).

FRASER, D. R., KODICEK, E. — Unique biosynthesis by kidney of a biologically active vitamin D metabolite. *Nature*, 228, 764-766 (1970).

FRIEDMAN, J., RAISZ, L. G. — Thyrocalcitonin : inhibition of bone resorption in tissue culture. *Science*, 150, 1465 (1965).

FROST, H. M. — Bone modeling and skeletal modeling errors. In : Orthopaedic lectures, Vol. IV. Ch. C. Thomas, Publ. Springfield, Illinois (1973).

Source : MNHN, Paris

FUJITA, T., ORIMO, H., OHATA, M., YOSHIKAWA, M., NAKANISHI, K., MISAKA, E. — Prevention of experimental bone atrophy by thyrocalcitonin. *Endocrinology*. Japon, 15, 8-12 (1968).

GAILLARD, P. J. — Bone culture studies with thyrocalcitonin. *Koninklijke Nederlands Akademie Van Wetenschaffen-Amsterdam, Proceedings*. Series C, 70, 309 (1967).

GALLOWAY, T. M. — The osmotic pressure and salme content of the blood of Petromyzon fluviatilis. *J. Exp. Biol.*, 10, 313-316 (1933).

GAREL, J. M., KERVRAN, A., RICQUIER, D., RIEUTORT, M., GIRARD, J. R. — Effets métaholiques de la calcitonine de Saumon chez le Rat après la naissance. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 277, 2757-2760 (1973).

GIACOMINI, E. — I corpi postbranchiali dei Teleostei. *Rend. R. Acad. Sci. Ist.* Bologna, new ser., 16, 77-78 (1912).

GORBMAN, A. — Functional and morphological properties in the thyroid gland, ultimobranchial body, and persisting ductus pharyngiobranchialis IV of an adult mouse. *Anat. Rec.*, 98, 93-102 (1947).

GREIL, A. — Uber die Anlage der Lungen sowie der ultimobranchialen (post-branchialen, supraperokardialen) Körper bei anuren Amphibien. *Anat. Hefte. Arb. Anat. Inst.* Wiesbaden, 29, 455-506 (1905).

GUARDABASSI, A. — The utilization of the calcerous deposit of the endolymphatic sacs, of Bufo bufo in the mineralization of the skeleton. Investigations by means of Ca^{45}. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 51, 278-282 (1960).

GUDMUNDSSON, T. V., Mac INTYRE, I., SOLIMAN, H. A. — The isolation of thyrocalcitonin and a study of its effects in the Rat. *Proceedings of the Royal Society*, B, 164, 460-477 (1966).

GUTTMANN, S. T., PLESS, J., HUGHENIN, R. L., SANDRIN, E. D., BOSSERT, H., ZEHNDER, K. — Synthesis of a highly potent hypocalcaemic dotriacontapeptid, having properties of salmon calcitonin. In : Calcitonin 1969. Proceedings of the 2th International Symposium London 21-26 July, ed. S. Taylor : Heinemann medical books Ltd 1970, 74-79 (1970).

HACHMEISTER, U., KRACHT, J., KRUSE, H., LENKE, H. — Lokalisation von C. Zellen im Ultimobranchialkörper des Haushuhuns. *Naturwissenschaften*, 54, 619-620 (1967).

HAY, W. A., WATSON, G. — The plasma transport proteins of 25-hydroxycholecalciferol in fish, amphibians, reptiles and birds. *Comp. Biochem. Physiol.*, 53 B, 167-173 (1976).

HENNIG, A. — Considérations critiques sur les mesures de volume et de surface en microscopie. *Bull. Tech.*. Zeiss 30, 78-87 (1958).

HENRY, H., NORMAN, A. W. — Presence of renal 25-hydroxyvitamin-D-1-hydroxylase in species of all vertebrates classes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 50 B, 431-434 (1975).

HILLYARD, C. J., LALLIER, F., LOPEZ, E., Mac INTYRE, I., MARTELLY, E., MILET, C., PEIGNOUX-DEVILLE, J. — Résultats inédits.

HIRSCH, P. F., MUNSON, P. L. — Thyrocalcitonin. *Physiological reviews*. 49, 548-622 (1969).

HIRSCH, P. F., VOELKEL, E., MUNSON, P. L. — Thyro calcitonin : hypocalcemic hypophosphatemic principle of the thyroid gland. *Science*, 146, 412-413 (1964).

HOAR, W. S. — Hormones in fish. In : Some aspects of the physiology of fish. *Univ. Toronto, Biol. Ser.*, 59, 1-51 (1951).

ISLER, H. — Fine structure of the ultimobranchial body of the chick. *Anat. Rec.*, 177, 441-460 (1973).

JONES, J. W. — The salmon. Collins. Ed. London, p. 192 (1959).

JORDAN, R. K., Mac FARLANE, B., SCOTHORNES, J. — An electron microscopic study of the histogenesis of the ultimobranchial body and of the C-cell system in the sheep. *J. Anat.*, 114, 115-136 (1973).

JOWSEY, J., KELLY, P. J., RIGGS, B. L., BIANCO, A. J., SCHOLTZ, D. A., GERSHON-COHEN, J. — Quantitative microradiographic studies of normal and osteoporotic bone. *J. Bone Joint Surg. Amer.*, 47 A, 785-806 (1965).

KAMEDA, Y. — Increased mitotic activity of the parafollicular cells of the dog thyroid in experimentally induced hypercalcemia. *Arch. Histol.* JPN, 32, n° 2, 179-192 (1970).

KNESE, K. H., KNOPP, A. M. — Chondrogenese und osteogenese : elecktronenmikroskopische und lichtmikroskopische untersuchungen. *Z. Zellforsh. Mikroskop. Anat.*, 55, 413-468 (1961).

KRACHT, J., HACHMEISTER, U., BREUSTEDT, H. J., BONICKE, J., LENKE, M. — Histopathological investigation on C cells. In : Calcitonin 1967. Proceedings of the Symposium on thyrocalcitonin and the C cells London 17-21 July, ed. S. Taylor : Heinemann medical books Ltd, 143-151 (1968).

Source : MNHN, Paris

KRAWARIK, F. — Uber eine bisher unbekannte Drüse ohne Ausfuhrungsgang bei den heimischen Knochenfischen. *Z. Mikroskop. Anat. Forsch.*, 39, 555-609 (1936).

KROGH, A. — Osmotic regulation in aquatic animals. Cambridge University Press (1939).

LE DOUARIN, N. — Étude ultrastructurale du corps ultimobranchial de l'embryon de Caille et du jeune Cailleteau et comparaison avec le Poulet. *C. R. Soc. Biol.*, 164, 884-892 (1970).

LE DOUARIN, N., LE LIÈVRE, C. — Démonstration de l'origine neurale des cellules à calcitonine du corps ultimobranchial chez l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 270, 2857-2860 (1970).

LELOUP-HATEY, J. — Fonctionnement de l'interrénal antérieur de deux Téléostéens : le Saumon atlantique et l'Anguille européenne. *Ann. Inst. Océanogr.*, 42, 221-338 (1964 a).

— Modifications de l'équilibre minéral de l'Anguille (Anguilla anguilla L.) consécutives à l'ablation des corpuscules de Stannius. *C. R. Soc. Biol.* (Paris), 158, 711-715 (1964 b).

LEWIS, P., RAFFERTY, M., SHELLEY, M., ROBINSON, C. J. — A suggested physiological role of calcitonin : the protection of the skeleton during pregnancy and lactation. *J. Endocrinol.*, 49, 9-10 (1971).

LIETZ, H., ZIPPEL, H. — Cytochemische Untersuchungen zur vergleichen den Morphologie der C — zellen in der Schildrüse. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 102, 85-98 (1969).

LOPEZ, E. — Étude histophysiologique des corpuscules de Stannius de Salmo salar L. au cours de diverses étapes de son cycle vital. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 12, 339-349 (1969).

— L'os cellulaire d'un Poisson Téléostéen « Anguilla anguilla L. ». II. Action de l'ablation des corpuscules de Stannius. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 109, 566-572 (1970).

— Étude morphologique et physiologique de l'os cellulaire des Poissons Téléostéens. Thèse de Doctorat ès Sciences de la Faculté des Sciences de Paris. *Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle*, sér. A, Zool., tome LXXX (1973).

LOPEZ, E., DEVILLE, J., BAGOT, E. — Etude histophysiologique du corps ultimobranchial d'un Téléostéen « Anguilla anguilla L. » au cours d'hypercalcémies expérimentales. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 267, 1531-1534 (1968).

LOPEZ, E., DEVILLE, J. — Effects of prolonged administration of synthetic salmon calcitonin (SCT) on vertebral bone morphology and on the ultimobranchial body (UB) activity of the mature female eel (Anguilla anguilla L.). Proceedings of the 9th European Symposium on Calcified Tissues, Baden 1-6 October, eds. A. Czitoher, J. Eschberger, 169-174, Facta — Publication (1973).

LOPEZ, E., PEIGNOUX-DEVILLE, J., LALLIER, F., MARTELLY, E., MILET, C. — Effects of calcitonin and ultimobranchialectomy (UBX) on calcium and bone metabolisms in the eel, Anguilla anguilla L. *Calcified. Tissue. Res.*, 20, 173-186 (1976 a).

LOPEZ, E., PEIGNOUX-DEVILLE, J., LALLIER, F., MARTELLY-BAGOT, E., MILET, C. — Effects of ultimobranchialectomy (UBX) upon the bone catabolism and anabolism and on some aspects of the calcium metabolism regulation in Anguilla anguilla L. *Calcified Tissue*, 1975, suppl. 21, Proceedings of the XIth European Symposium on Calcified Tissues, ed. S. Pors Nielsen, E. Hjørting-Hanse, 88-95 (1976 b).

LOUW, C. N., STAHL, P. D., KENNY, A. D. — Thyrocalcitonin studies in elasmobranch fish. *Zool. Africana*, 4, 95-98 (1969).

LOUW, G. N., SUTTON, W. S., KENNY, A. D. — Action of calcitonin in the Teleost fish, Ictalurus melas. *Nature*, 215, 888-889 (1967).

Mac COLLUM, E. V., SIMMONDS, N. — Studies of experimental rickets. VIII. The production of rickets by diets low in phosphorus and fat-soluble A. *J. Biol. Chem.*, 47, 507-527 (1921).

Mac INTYRE, I. — Human calcitonin : practical and theoretical consequences. In : Calcitonin 1969. Proceedings of the 2nd International Symposium London 21-24 July. Ed. S. Taylor W. Heinemann medical books Ltd, 1-13 (1970).

Mac INTYRE, I., COLSTON, K. W., EVANS, I. M. A., LOPEZ, E., Mac AULEY, S. J., PEIGNOUX-DEVILLE, J., SPANOS, E., SZELKE, M. — Regulation of vitamin D : an evolutionary view. *Clin. Endocrinol.*, 5 suppl., 85S-95S (1976).

MAETZ, J. — Fish gills : mechanisms of salt transfer in fresh water and sea water. *Phil. Trans. Roy. Soc.*, London, B 262, 209-249 (1971).

MAETZ, J. et ses collaborateurs. — Recherches sur la perméabilité aux électrolytes de la branchie des poissons et sa régulation endocrinienne. Extrait du *Bulletin d'Informations scientifiques et Techniques du Commissariat à l'Énergie Atomique*, n° 86 (1964).

Source : MNHN, Paris

MALMQVIST, E., ERICSON, L. E., ALMQVIST, S., EKHOLM, R. — Granulated cells, uptake of amine precursors, and calcium lowering activity in the ultimobranchial body of the domestic fowl. *J. Ultrastruct. Res.*, 23, 457-461 (1968).

MATSUZAWA, T. — Experimental morphological studies on the parafollicular cells of the rat thyroid gland, with special reference to the source of thyrocalcitonin. *Arch. Histol.* JPN, 27, 521 (1966).

MATSUZAWA, T., KUROSUMI, K. — Morphological changes in the parafollicular cells of the rat thyroid glands after administration of calcium shown by electron microscopy. *Nature*, 213, 927-928 (1967).

MELANDER, A., OWMAN, Ch., SUNDLER, F. — Concomitant depletion of dopamine and secretory granules from cells in the ultimobranchial gland of vitamin D_2 — treated chicken. *Histochemie*, 25, 21-31 (1971 a).

—, —, — Effect of vitamine D_2 stimulation on amine stores and secretory granules in the calcitonin cells of the mouse. *Histochemie*, 25, 32-44 (1971 b).

MELLANBY, E. — An experimental investigation on rickets. *Lancet*, 196. 1, 407-412 (1919).

MILET, C., MARTELLY, E., FONTAINE, M. — Corpuscules de Stannius (CS) et flux de calcium au niveau des branchies perfusées d'Anguilla vulgaris. *J. Physiol.* (Paris), 71, n° 1, 141 A (1975).

MILHAUD, G., JOB, J. C. — Thyrocalcitonin : effect on idiopathic hypercalcemia. *Science*, 154, 794-795 (1966).

MILHAUD, G., MOUKHTAR, M. S. — Thyrocalcitonin : effects on calcium kinetics in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 123, 207-209 (1966).

MILHAUD, G., MOUKHTAR, M. S., CHERIAN, C., PERAULT, A. M. — Effets de l'administration de thyrocalcitonine sur les principaux paramètres du métabolisme du calcium du rat normal et du rat thyroparathyroïdectomisé. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 262, 511-514 (1966).

MILHAUD, G., PERAULT, A. M., MOUKHTAR, M. S. — Étude du mécanisme de l'action hypocalcémiante de la thyrocalcitonine. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 261, 813-816 (1965).

MILHAUD, C., TSIEN-MING, L., MOUKHTAR, M. S. — Synergie et antagonisme de la thyroxine, de la parathormone et de la thyrocalcitonine sur la calcémie et la phosphatémie. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 264, 846-849 (1967).

MITTLEMAN, R., CHAUSMER, A., BELLAVIA, J., WALLACH, S. — Thyrocalcitonin activity in hypercalcemia produced by calcium salts, parathyroid hormone and vitamin D. *Endocrinology*, 81, 599-604 (1967).

MONOD, R. — Scaridés et milieu corallien : notes biogéographiques. Proceedings of the 8th Pacific Sciences Congress, III, A, 971-978, Oceanology and Zoology (1956).

MOTAIS, R., GARCIA-ROMEU, F. — Transport mechanisms in the Teleostean gill and Amphibian skin. *Annu. Rev. Physiol.*, 34, 141-176 (1972).

MOURA, A. M. — Contribution à l'étude de quelques propriétés physiologiques de la calcitonine : mise en évidence de l'interaction thyroxine-calcitonine au niveau de l'os. Thèse de Doctorat ès-Sciences, Bordeaux, n° 303 (1970).

MOUSSET, G. — Sur la maturation sexuelle du Congre. *Bull. Centre Et. Rech. Sc.*, Biarritz, 1, 559-561 (1957).

MOY-THOMAS, J. A. — The early evolution and relationships of Elasmobranches. *Biol. Rev.*, 14, 1-26 (1939).

NÈVE, P., WOLLMAN, S. H. — Fine structure of ultimobranchial follicles in the thyroid gland of the rat. *Anat. Rec.*, 171, 259-272 (1971).

NUSBAUM-HILAROWICZ, J. — Uber den Bau des Darnkanals bei einigen Tiefseeknochenfischen. *Anat. Anz.*, 48, 497-506 (1916).

O'DOR, R. K., PARKES, C. O., COPP, D. H. — Biological activities and molecular weights of ultimobranchial and thyroid calcitonins. *Comp. Biochem. Physiol.*, 29, 295-300 (1969).

OGURI, M., TAKADA, N. — Serum calcium and magnesium levels of goldfish, with special reference to the gonadal maturation. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.*, 33, 161-166 (1967).

OLIVEREAU, M. — Corpuscules de Stannius et reproduction chez l'Anguille mâle. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 253, 541-543 (1961).

— Action de l'aldactone sur les corpuscules de Stannius chez l'Anguille. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 257, 4035-4038 (1963).

— Corpuscles of Stannius in sea water eels. *Amer. Zool.*, 4, 415 (Abstract) (1964).

OLIVEREAU, M., LEMOINE, A. M. — Prolactine ovine et électrolytes plasmatiques (K^+, Ca^{++} et Cl^-) chez l'Anguille. *J. Physiol.* (Paris), 67, 210 A (1973).

Source : MNHN, Paris

ORIMO, H., YAMAUCHI, H., OHYAMA, T. — Biological and immunological properties of eel calcitonin. 6th International Congress of Endocrinology, Hamburg (Fed. Rep. Germany), July 18-24, 157-158, Abstract (1976).

OSTLE, B. — Statistics in research. Iowa State University Press (1963).

PANG, P. K. T. — The effect of complete darkness on a teleost fish, Fundulus heteroclitus. *Amer. Zool.*, 9 (3), 591 (1969).

— Calcitonin and ultimobranchial glands in fishes. In : Comparative studies of calcitonin and ultimobranchial bodies. Symposium organisé par N. B. Clark. *J. Exp. Zool.*, 178, n° 1, 89-100 (1971).

— Endocrine control of calcium metabolism in Teleosts. *Amer. Zool.*, 13, 775-792 (1973).

PANG, P. K. T., PICKFORD, G. E. — Failure of hog thyrocalcitonin to elicit hypocalcemia in the Teleost fish, Fundulus heteroclitus. *Comp. Biochem. Physiol.*, 21, 573-578 (1967).

PANG, P. K. T., SCHREIBMAN, P., GRIFFITH, R. W. — Pituitary regulation of serum calcium levels in the killifish, Fundulus heteroclitus. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 21, 536-542 (1973).

PEARSE, A. C. E. — 5-hydroxytryptophan uptake by dog thyroid « C » cells and its possible significance in polypeptide hormone production. *Nature*, London, 211, 598-600 (1966 a).

PEARSE, A. C. E. — The cytochemistry of the thyroid G cells and their relationship to calcitonin. *Proc. Roy. Soc.* London (Biol.), 164, 478-487 (1966 b).

— Common cytochemical and ultrastructural characteristics of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells and calcitonin. *Proc. Roy. Soc.* London (Biol.), 170, 71-80 (1968).

— The characteristics of the C cell and their significance in relation to those of other endocrine polypeptide cells and to the synthesis, storage and secretion of calcitonin. In : Calcitonin. Proceedings of the 2nd International Symposium London 21-24 July. Ed. S. Taylor. W. Heinemann medical books Ltd., 125-140 (1970).

PEARSE, A. G. E., CARVALHEIRA, A. F. — Cytochemical evidence for an ultimobranchial origin of rodent thyroid G cells. *Nature*, 214, 929-930 (1967).

PEARSE, A. C. E., POLAK, J. M. — Cytochemical evidence for the neural crest origin of mammalian ultimobranchial C cells. *Histochemie*, 27, 96-102 (1971).

PEARSE, A. G. E., WELSCH, U. — Ultrastructural characteristics of the thyroid C cells in the summer, autumn and winter stated of the hedgehog (Erinaceus europaeus) with some reference to other mammalian species. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 92, 596-609 (1968).

PEIGNOUX-DEVILLE, J., LOPEZ, E., LALLIER, F., MARTELLY-BACOT, E., MILET, C. — Responses of the ultimobranchial body in eels, Anguilla anguilla L., maintained in sea water and experimentally matured, to injections of synthetic salmon calcitonin. *Cell. Tiss. Res.*, 164, 73-83 (1975).

PEIGNOUX-DEVILLE, J., MILET, C., MARTELLY-BACOT, E. — Effets de l'ablation du corps ultimobranchial et de la perfusion de calcitonine sur les flux de calcium au niveau des branchies de l'Anguille (Anguilla anguilla L.). *Ann. Biol. Anim., Biochim. Biophys.*, 18 (1), 119-126 (1978).

PÉRARD, Ch. — Le Congre caoutchouc. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 189, 1024-1027 (1929).

PICKFORD, G. E. — A study of the hypophysectomized male killifish, Fundulus heteroclitus. *Bull. Bingham.* Oceanogr. Coll., 14, 5-11 (1953).

RAISZ, L. G., TRUMMEL, C. L., HOLICK, M. F., DE LUCA, H. F. — 1-25 dihydroxycholecalciferol : a potent stimulator of bone resorption in tissue culture. *Science*, 175, 768-769 (1972).

RASMUSSEN, H., PECHET. — In Vertebrate hard tissues. Chap. IV. L. 8. Halstead. The wykeham science series. Wykeham publ. (London), Ed. Nevill Mott, Moakes, Yapp., Chapman et Hall Ltd (1974).

RASQUIN, P. — Cytological evidence for a role of the corpuscles of Stannius in the osmoregulation of Teleosts. *Biol. Bull.*, 111, 399-409 (1956).

RASQUIN, P., ROSENBLOOM, L. — Endocrine imbalance and tissue hyperplasia in teleost maintained in darkness. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.*, 104, 363-425 (1954).

REYNOLDS, J. J., HOLICK, M. F., DE LUCA, H. F. — The role of Vitamin D metabolites in bone resorption. *Calcified Tissue Res.*, 12, 295-302 (1973).

RICHARDS, B. D., FROMM, P. O. — Sodium uptake by isolated perfused gills of rainbow trout (Salmo gairdnerii). *Comp. Biochem. Physiol.*, 33, 303-310 (1970).

Source : MNHN, Paris

ROBERTSON, D. R. — The ultimobranchial body in Rana pipiens. II. The various cell types and the fate of secretory granules in the parenchyma of the young adult. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 67, 584-599 (1965).

— The ultimobranchial body in Rana pipiens. V. The cell cycle studied with tritiated thymidine. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 86, 195-203 (1967).

— The ultimobranchial body in Rana pipiens. IV. Hypercalcemia and glandular hypertrophy. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 85, 441-452 (1968 a).

— The ultimobranchial body in Rana pipiens. VI. Hypercalcemia and secretory activity, evidence for the origin of calcitonin. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 85, 453-465 (1968 b).

— The ultimobranchial body of Rana pipiens. VIII. Effects of extirpation upon calcium distribution and bone cell types. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 12, 479-490 (1969 a).

— The ultimobranchial body of Rana pipiens. X. Effects of granular extirpation fracture on healing. *J. Exp. Zool.*, 172, 425-442 (1969 b).

— Some morphological observations of the ultimobranchial gland in the rainbow trout, Salmo gairdnerii. *J. Anat.*, 105, 115-127 (1969 c).

— The ultimobranchial body in Rana pipiens. IX. Effects of extirpation and transplantation on urine calcium excretion. *Endocrinology*, 84, 1174-1178 (1969 d).

— The role of the Amphibian ultimobranchial gland on sites of calcium mobilization. In : Calcitonin 1969. Proceedings of the 2nd International Symposium London 21-24 July, ed. S. Taylor. Heinemann medical books Ltd., 319-331 (1970).

— Endocrinology of Amphibian ultimobranchial glands. *J. Exp. Zool.*, 178, 101-114 (1971).

ROBERTSON, D. R., BELL, A. L. — The ultimobranchial body in Rana pipiens. I. The fine structure. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 66, 118-129 (1965).

ROBERTSON, D. R., SWARTZ, G. E. — The development of the ultimobranchial body in the frog Pseudacris nigrita triseriata. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 83, 330-337 (1964 a).

—, — Observations on the ultimobranchial body in Rana pipiens. *Anat. Rec.*, 148, 219-229 (1964 b).

ROUSSELET, F. — Spectrophotométrie par absorption atomique appliquée à la biologie. Éd. Sedes, Paris (1968).

SABATINI, D. D., BENSCHE, K., BARRNETT, R. J. — Cytochemistry and electron microscopy : preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J. Cell. Biol.*, 17, 19-58 (1963).

SASAYAMA, Y., OGURO, C. — Effects of ultimobranchialectomy on calcium and sodium concentrations of serum and coelomic fluid in bullfrog tadpoles under high calcium and high sodium environment. *Comp. Biochem. Physiol.*, 55 A (1), 35-37 (1976).

SAXEN, L., TOIVONEN, S. — The development of the ultimobranchial body in Xenopus laevis Daudin and its relation to the thyroid gland and epithelial bodies. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 3, 376-384 (1955).

SCHIFFMAN, R. H. — A perfusion study of the movement of strontium across the gills of rainbow trout (Salmo gairdnerii). *Biol. Bull.*, 120, 110-117 (1961).

SEHE, C. T. — Radioautographic studies on the ultimobranchial body and thyroid gland in vertebrates : fishes and amphibians. *Endocrinology*, 67, 674-684 (1960).

— Comparative studies on the ultimobranchial body in Reptiles and Birds. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 5, 45-59 (1965).

SHUTTLEWORTH, T. J. — A new isolated perfused gill preparation for the study of the mechanisms of ionic regulation in Teleosts. *Comp. Biochem. Physiol.*, 43 A, 59-64 (1972).

SISSONS, H. A., JOWSEY, J., STEWART, L. — Quantitative microradiography of bone tissue. In : X-ray microscopy and microanalysis. Proceedings of the 2nd International Symposium. Ed. A. Engström, V. E. Cosslett and H. H. Pattee, Amsterdam : Elsevier Publishing Company, 199-205 (1960).

SMITH, H. W. — Water regulation and its evolution in fishes. *Quart. Rev. Biol.*, 7, 1-26 (1932).

SOLCIA, E., SAMPIETRO, R. — News methods for staining secretory granules and 5-hydroxytryptamine in the thyroid C cells. In : Calcitonin 1967. Proceedings of the Symposium on Thyrocalcitonin and the C cells London 21-24 July, ed. S. Taylor, Heinemann medical books Ltd., 127-132 (1968).

SØRENSEN, O. H., HINDBERG, I. — Influence of gonadal hormones on the action of calcitonin in the rat. *Acta Endocrinol.*, 68, 585-596 (1971).

STACHURA, J., PEARSE, A. C. E. — Thyroid C cells in experimental hyper and hypomagnesemia. *Virchows. Arch. B. Cell Path.*, 5, 173-186 (1970).

Source : MNHN, Paris

STAHL, CARLON. — Dans Techniques histologiques. Gabe 1968. Éd. Masson et Cie (1966).

STANNIUS, H. — Uber Nebennieren bei Knochenfischen. *Arch. Anat. Physiol. Wissenschaft. Med.*, 6, 97-101 (1839).

STOECKEL, M. E., PORTE, A. — Sur l'ultrastructure des corps ultimobranchiaux de Poussin. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 265, 2051-2053 (1967).

—, — Étude ultrastructurale des corps ultimobranchiaux de Poulet. I. Aspect normal et développement embryonnaire. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 94, 495-512 (1969 a).

—, — Localisation ultimobranchiale et thyroïdienne des cellules C (cellules à calcitonine) chez deux Columbidae : le Pigeon et le Tourtereau. Étude au microscope électronique. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 102, 376-386 (1969 b).

—, — Origine embryonnaire et différenciation sécrétoire des cellules à calcitonine (cellule C) dans la thyroïde fœtale du Rat. Étude au microscope électronique. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, 106, 215-268 (1970).

TAUBER, S. D. — The ultimobranchial origin of thyrocalcitonin. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, U.S., 58, 1684 (1967).

TCHERNAVIN, V. — Changes in the salmon skull. *Trans. Zool. Soc.*, London, 24, part 1-4, 104-157 (1938).

TEITELBAUM, S. L. — Morphological effects of vitamin D and its analogs on bone. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 29, 1300-1306 (1976).

TISSERAND, E. M., EYQUEM, A., PEIGNOUX, J., CALMETTES, C. — Mise en évidence dans le sérum de malades, traités par la calcitonine de Saumon d'anticorps anticalcitonine par immunofluorescence indirecte sur coupes de corps ultimobranchial d'Anguille. Société française d'Immunologie. Réunion de communications libres. Lille 14 et 15 mai 1976 (1976).

—, —, —, — Calcitonine du corps ultimobranchial d'Anguilles (Anguilla anguilla L.) : localisation cytologique par immunofluorescence indirecte à l'aide d'un anticorps humain anti-calcitonine de Saumon. *C. R. Acad. Sci.* Sér. D (Paris), 285, 81-84 (1977).

TOSTESON, D. C., SPIVACK, S., NELSON, D. — Sodium and chloride transport by the isolated perfused eel gill. *J. Gen. Physiol.*, 45, 620A (1962).

URIST, M. R. — The regulation of calcium and other ions in the serum of hagfish and lampreys. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 109, 294-311 (1963).

— Avian parathyroïd physiology including a special comment on calcitonin. *Amer. Zool.*, 7, 883-895 (1967).

URIST, M. R., Van de PUTTE, K. A. — Comparative biochemistry of the blood of fishes identification of elasmobranches and other fishes by the chemical composition of serum. Current investigations dealing with the biology of elasmobranch fishes. Amer. Inst. Biol. Sciences, Washington, D.C. (1966).

USSING, H. H. — Interpretation of the exchange of radiosodium in isolated muscle. *Nature*, 160, 262-263 (1947).

VAN BEMMELEN, J. F. — Sur le corps ultimobranchial chez les Élasmobranches avec un supplément sur Acipenser sturio. *Mitt. Zool. Station Neapel*, 6, 165-184 (1886).

VAN DYKE, J. H. — The ultimobranchial body. In : Comparative Endocrinology, ed. A. Gorbman, John Wiley and Sons Ltd, New-York, 320-339 (1959).

VAN NOORDEN, S., PEARSE, A. G. E. — Immunofluorescent localization of calcitonin in the ultimobranchial gland of Rana temporaria and Rana pipiens. *Histochemie*, 26, 95-97 (1971).

—, — The ultimobranchial gland of the dogfish (Scyliorhinus canicula L.). Immunofluorescence cross-reactivities with anti-sera to different calcitonins. *Histochemie*, 30, 97-101 (1972).

VIBERT, R. — Recherches sur le Saumon de l'Adour (Salmo salar L.). *Ann. Stat. Centr. Hydrobiol., appl.*, 3, 27-149 (1950).

VU TAN-TUE. — Histologie des corps ultimobranchiaux chez Chimoera Monstrosa. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.*, 59, 21-36 (1970).

WATTS, E. C., COPP, D. H., DEFTOS, L. J. — Changes in plasma calcitonin and calcium during the migration of Salmon. *Endocrinology*, 96, 214-218 (1975).

WATZKA, M. — Vergleichende Untersuchungen über die ultimobranchialen körper. *Z. Mikroskop. Anat. Forsch.*, 34, 485-533 (1933).

WEIBEL, E. R., ELIAS, H. — Introduction to stereologic principles. In : Quantitative methods in morphology. Ed. E. R. Weibel and H. Elias, Berlin Heidelberg, New-York, Springer, 89-98 (1967).

Source : MNHN, Paris

WELSCH, U., FLITNEY, F. W., PEARSE, A. G. E. — Comparative studies on the ultrastructure of the thyroid parafollicular C cells. *J. Microsc.*, 89, 83 (1969).

WOLLMAN, S. H., NÈVE, P. — Postnatal development and properties of ultimobranchial follicles in the rat thyroid. *Anat. Rec.*, 171, 247-258 (1971 a).

—, — Ultimobranchial follicles in the thyroid glands of Rats and Mice. In : Recent Progress in Hormone Research, 27, Academic Press. Inc. New-York and London (1971 b).

YOUSHAK, M. S., CAPEN, C. C. — Ultrastructural evaluation of ultimobranchial glands from normal and osteopetrotic Chicken. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 16, 430-442 (1971).

Source : MNHN, Paris

PLANCHES

Source : MNHN, Paris

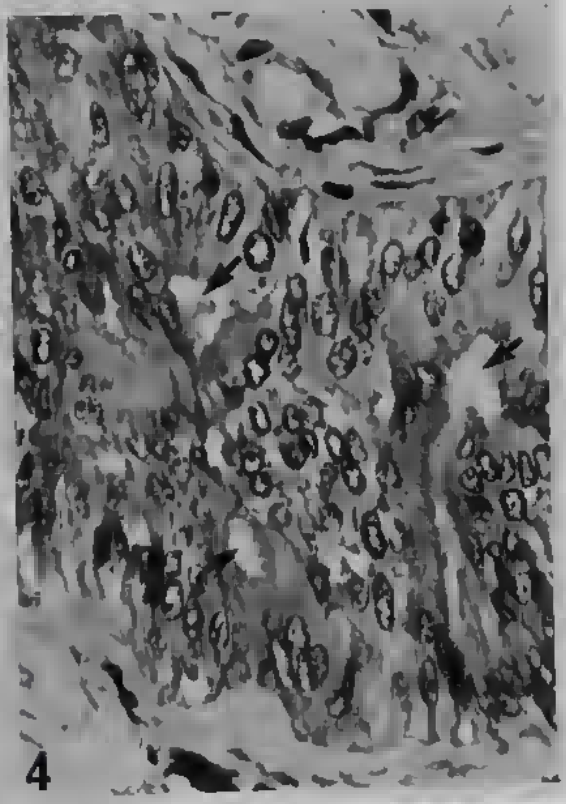
FIG. 1. — Anguille ♂ (pimpeneau). Coupe transversale de la région du C.U.B. (→). Mise en évidence de sa localisation entre le sinus veineux et le tissu digestif. (× 80). Col. Cleveland Wolfe.

FIG. 2. — Anguille ♀. Coupe transversale. Vue générale du C.U.B. constitué de deux follicules épithéliaux. (× 80). Col. Cleveland Wolfe.

FIG. 3. — Congre ♀. Coupe transversale. Vue générale d'un follicule du C.U.B. (→). (× 80). Col. Cleveland Wolfe.

FIG. 4. — Truite arc-en-ciel. Coupe transversale. Vue générale du C.U.B. de la Truite formé de plusieurs petits follicules ayant une lumière peu importante (→). (× 360). Col. Cleveland Wolfe.

Source : MNHN, Paris



DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

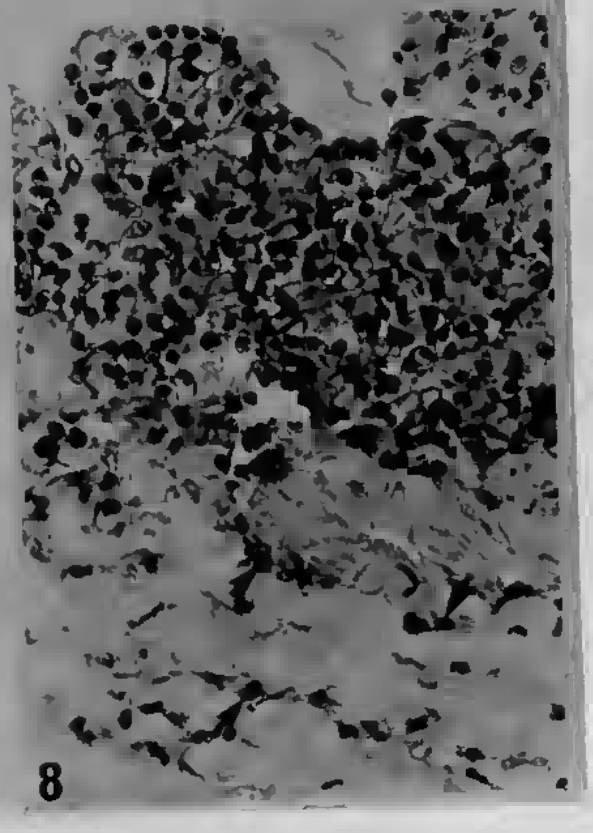
FIG. 5. — Saumon jeune : parr, smolt ou pseudo-smolt. Vue générale du C.U.B. Epithélium contourné formant des follicules. (× 360). Col. PAS — hématoxyline de Groat.

FIG. 6. — Saumon adulte capturé sur l'aire de ponte. Vue générale du C.U.B. formé d'un seul follicule épithélial. (× 80). Col. PAS — hématoxyline de Groat.

FIG. 7. — Saumon adulte capturé sur les aires d'engraissement. Détail de l'épithélium du C.U.B. Cellules à mucus (→). (× 800). Col. PAS — hématoxyline de Groat.

FIG. 8. — Poisson Perroquet. Vue générale du C.U.B. Noter l'absence de membrane basale entourant la glande et les cellules migrant dans les tissus voisins (→). (× 360). Col. PAS — hématoxyline de Groat.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

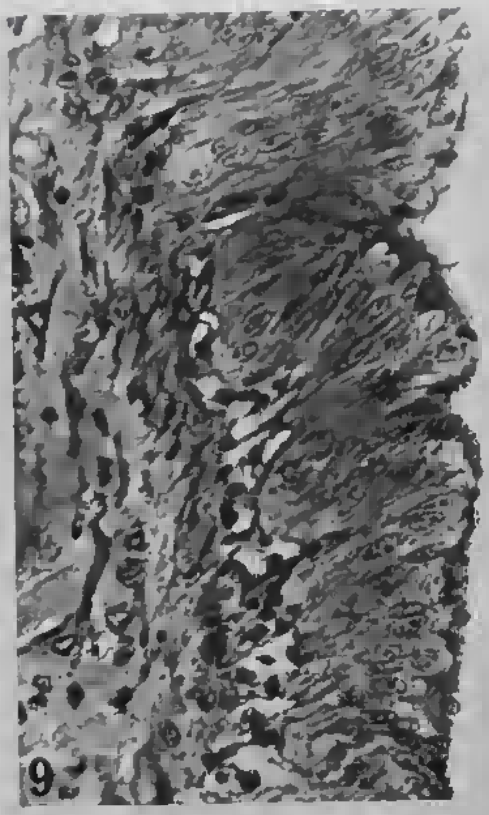
FIG. 9. — C.U.B. d'Anguille ♀ mature. Épithélium hyperplasique. Cellules basales (→). (× 360). Col. Cleveland Wolfe.

FIG. 10. — C.U.B. d'Anguille ♀ mature. Épithélium hyperplasique. Cellules hypertrophiées à cytoplasme dégranulé (→). Feston formé de cellules en dégénérescence (▶). (× 360). Col. Cleveland Wolfe.

FIG. 11. — C.U.B. d'Anguille ♀ mature. Figures de mitose (→). (× 360). Col. Cleveland Wolfe.

FIG. 12. — C.U.B. d'Anguille ♀ mature. Figure de mitose (→). Cellules en dégénérescence (⇨). (× 800). Col. Cleveland Wolfe.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

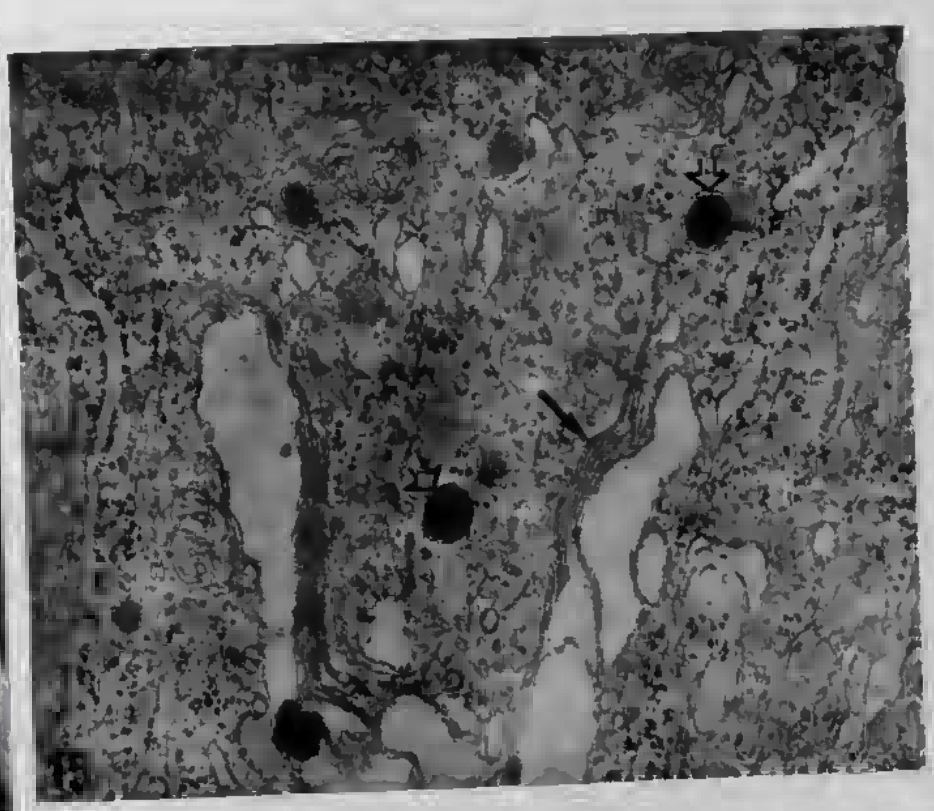
FIG. 13. — Mise en évidence d'une fluorescence intense dans l'épithélium du C.U.B. de l'Anguille après injection de DOPA.

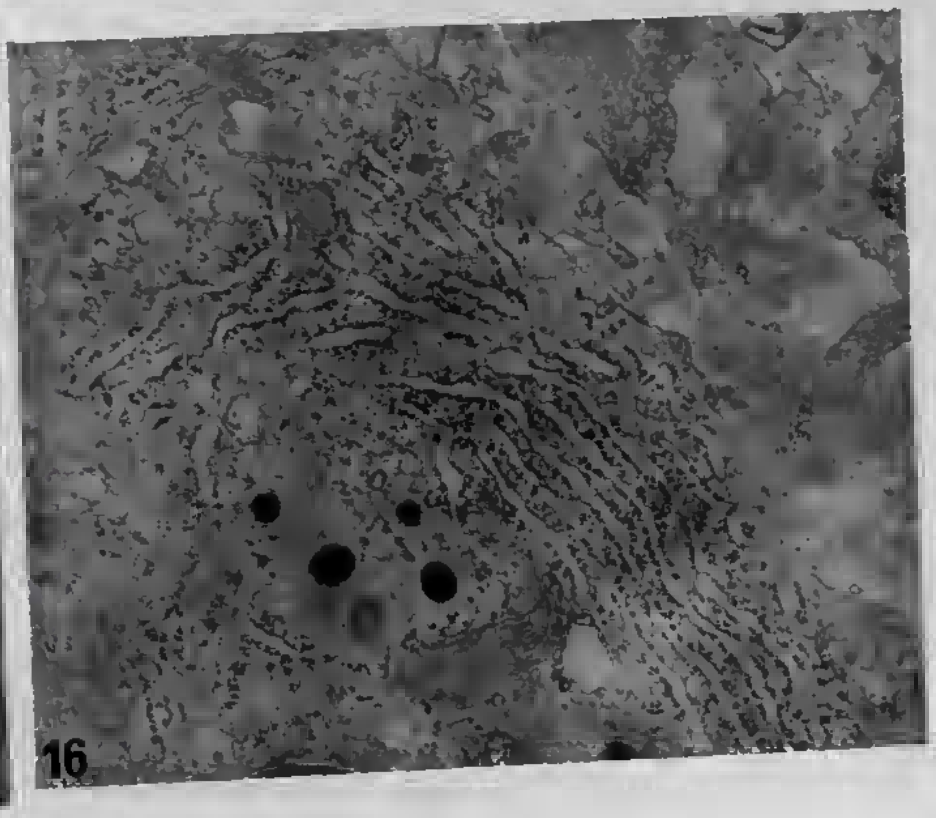
FIG. 14. — Anguille témoin. L'épithélium du C.U.B. d'une Anguille non injectée de DOPA montre une faible fluorescence.

FIG. 15. — C.U.B. d'Anguille ♀ mature, région de l'appareil de Golgi (→). Grains de sécrétion membranés (⇨). (× 45.000).

FIG. 16. — C.U.B. d'Anguille ♀ mature, ergastoplasme granulaire développé et grains de sécrétion membranés. (× 36.000).

Source : MNHN, Paris





Source : MNHN, Paris

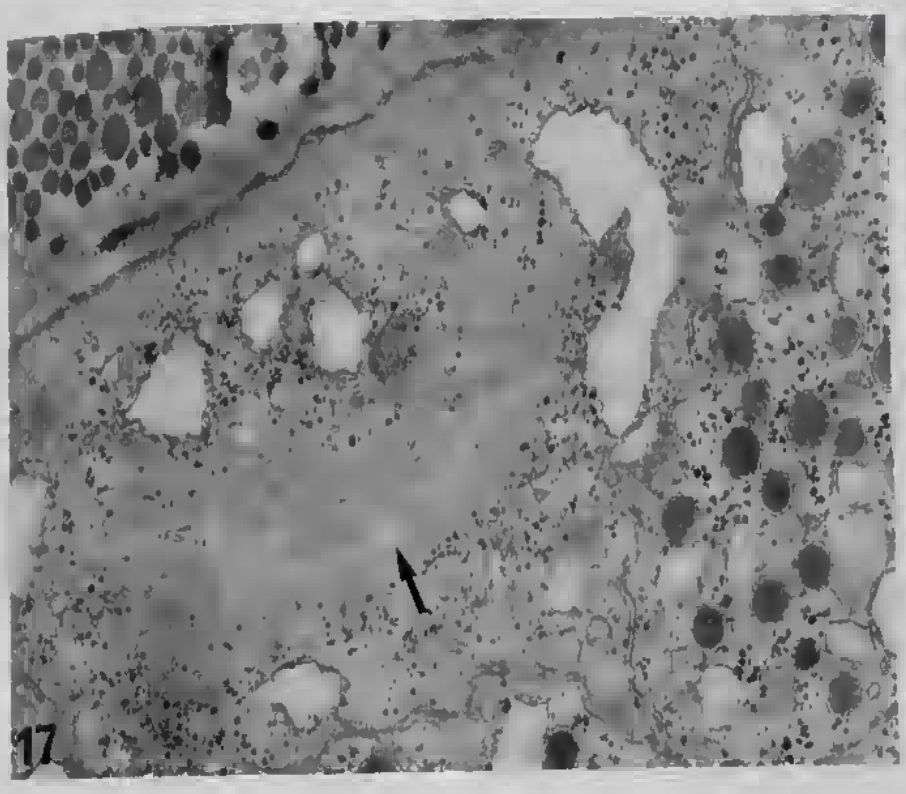
FIG. 17. — C.U.B. d'Anguille témoin. Cellule basale, contenant de fins microfilaments (→). (× 40.500).

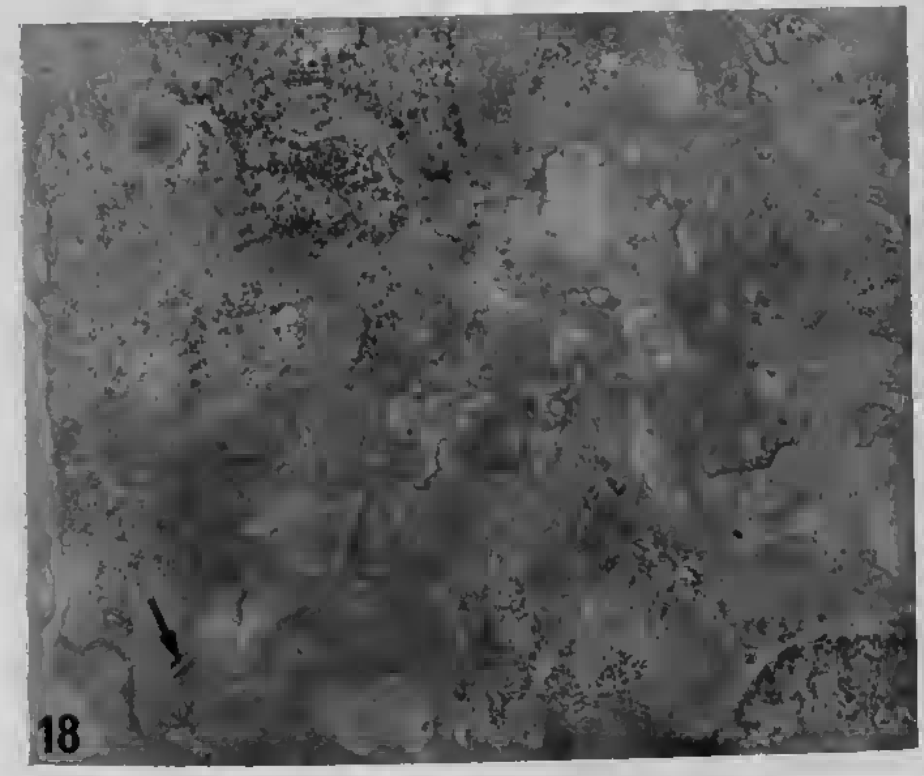
FIG. 18. — C.U.B. d'Anguille ♀ mature. Régions apicales. L'espace intercellulaire est élargi au delà du desmosome (→). (× 36.000).

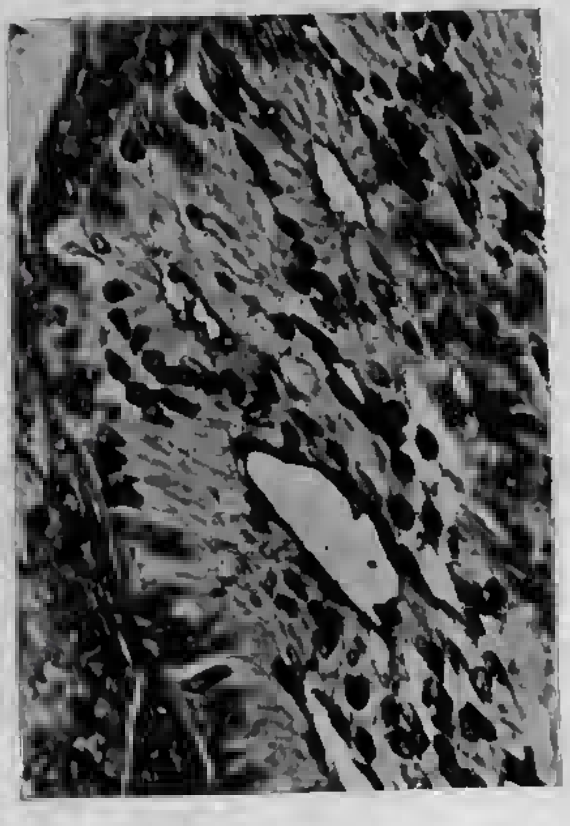
FIG. 19. — C.U.B. de Parr. Cellules à cytoplasme clair et à noyaux basophiles. Granulations PAS + au bord de la lumière (▶) et vaisseaux sanguins allongés contre la membrane basale (→). (× 360). Col. PAS.

FIG. 20. — C.U.B. de Smolt. (× 360). Col. PAS.

Source : MNHN, Paris







Source : MNHN, Paris